Beiträge zur Kenntnis der Torulaceen in chemisch-physiologischer Beziehung.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

der

hohen philosophischen Fakultät

der

Friedrich-Alexanders-Universität Erlangen

vorgelegt von

Joseph Scheckenbach

aus Nürnberg.

Tag der mündlichen Prüfung: 14. Juni 1911.

Nürnberg 1911.

U. E. Sebald, Kgl. Bayer. Hofbuchdruckerei.

Gedruckt mit Genehmigung
der hohen philosophischen Fakultät zu Erlangen.

Referent: Herr Professor Dr. K. Paal
Korreferent: Herr Professor Dr. H. Solereder
Dekan: Herr Professor Dr. M. Noether.

Meinen lieben Eltern in Dankbarkeit gewidmet.

Einleitung.

Mit dem Namen Torula bezeichnete Pasteur*) in seinen „Études sur la bière“ eine Gruppe von Pilzen, welche sich wie die Bierhefe durch Sprossung vermehren und eines typischen Myceliums entbehren. Als Hauptmerkmal der Torulaformen bezeichnet Pasteur, daß sie ebensowenig wie die Mycodermen alkoholische Gärung hervorrufen.

Hansen**) bezeichnet mit dem Namen Torula Sproßpilze, welche weder Endosporen noch typische Schimmelvegetation bilden. Eine nähere Beschreibung der von ihm in Reinkultur gewonnenen Formen liegt nicht vor.

Will***) beschäftigt sich schon seit einer Reihe von Jahren an der W.-St. für Brauerei in systematischer Weise mit den Sproßpilzen ohne Sporenbildung überhaupt, im besonderen mit den Torulaceen durch das Studium von 13 charakteristischen Formen.

Will's Untersuchungen haben das Endziel, durch ein möglichst ausgedehntes systematisches Studium in die Gruppe der Sproßpilze ohne Sporenbildung, in welcher bis in die jüngste Zeit eine große Verwirrung herrschte, soweit als möglich

*) Pasteur, L. Études sur la bière, Paris 1876. S. 73 Anm. 1.

**) Hansen, Emil Chr. Comptes rendus Carlsberg Laborat. 1898 Bd. IV S. 93.

***) Will, H. a) Torulaceen, Rosahefen und schwarze Hefen. Handbuch der Techn. Mykol. von Fr. Lafar, Jena, G. Fischer 1906, 4. S. 280. — b) Beiträge zur Kenntnis der Sproßpilze ohne Sporenbildung, welche in Brauereibetrieben und deren Umgebung vorkommen. Zentralblatt Bakteriol. II, 1903 10 S. 689. — I. Mitteilung Zeitschrift ges. Brauw. 1903 26 S. 265. — II. Mitteilung Zeitschrift ges. Brauw. 1906 292 S. 41. — Zentralblatt Bakt. II, 1906 17 S. 1. — III. Mitteilung Zentralblatt Bakt. II 1906 17 S. 3. — IV. Mitteilung ebenda Will & Dachs 1908 21 S. 386.

Ordnung zu bringen. Es sollen durch ein eingehendes Studium an einzelnen charakteristischen Formen in morphologischer und, da dies zur Charakterisierung nicht ausreicht, in kultureller und physiologischer Hinsicht Richtpunkte gewonnen werden, durch welche zunächst die ganze Gruppe in einzelne kleinere Gruppen geschieden werden kann. Ferner sollen die Art- und Rassenmerkmale der einzelnen Formen festgestellt werden.

Durch die Untersuchungen, welche H. Leberle****) an vier Mycodermaformen auf Veranlassung von Will ausgeführt hat, ist jetzt die Gattung Mycoderma schärfer umschrieben und gegen die Torulaceen abgegrenzt.

Die Untersuchung von A. Geiger†), welche im wesentlichen nach den von H. Will für die Torulaceen und Mycodermen gegebenen Richtpunkten ausgeführt wurde, hat ferner dazu geführt, neben der schon früher aufgestellten und etwas genauer bekannten Gattung Monilia eine weitere Gruppe von Sproßpilzen ohne Sporenbildung mit dem Gattungsnamen Pseudomonilia abzugrenzen.

Will zieht im Gegensatz zu Hansen den Formenkreis der Torulaceen weiter und nimmt in diesen auch solche Formen auf, wie sie schon Pasteur gekennzeichnet hat. Nach morphologischen Gesichtspunkten wurden die Torulaceen in zwei Untergruppen getrennt. Die erste umfaßt Sproßpilze ohne bis jetzt nachweisbare Sporenbildung, welche nach den vorliegenden Beobachtungen ausschließlich oder nahezu ausschließlich mehr oder weniger rundliche Zellen mit und ohne Gärvermögen erzeugen. In der zweiten Untergruppe werden diejenigen Sproßpilze vereinigt, welche gemischte, auseinander hervorgehende den Mycodermen ähnliche Zellformen besitzen und größere Sproßverbände bilden,

****) Leberle, Hans, Beiträge zur Kenntnis der Gattung Mycoderma. Dissertation München 1909. Zentralblatt Bakt. II 1910, 28 S. 1.

†) Geiger, A. Beiträge zur Kenntnis der Sproßpilze ohne Sporenbildung, Zentralblatt Bakt. II. 1910 27 S. 97.

von den Mycodermaarten sich jedoch durch Gärvermögen unterscheiden.

Charakteristische Zellformen in jungen Kulturen, fehlendes Gärvermögen, Nichtassimilierung gewisser Zuckerarten, die energische Oxydierung von Aethylalkohol, die höheren Grenzwerte für die Wachstumshemmung durch Aethylalkohol, das Verhalten gegenüber einzelnen organischen Säuren u. a. m. grenzt die Mycodermen bis jetzt scharf von den Torulaceen ab.

Bei den Pseudomonilien Geigers herrscht neben den gedrungeneren Sproßzellformen ein mehr oder weniger verzweigtes, dünnes, bei einzelnen Arten vielfach hin und her gewundenes Fadenmycel ohne Querwände vor.

Die Monilien unterscheiden sich von den Pseudomonilien und von den Torulaceen der zweiten Untergruppe durch ein Mycel mit Querwänden.

Die erste Untergruppe umfaßt die Arten Nr. 3 + 4, 5, 6, 7, 8, 11 und 17, die zweite Untergruppe die Nr. 1, 2, 9, 10, 15 und 16 (die Nummern beziehen sich auf die Nummern der Sammlung des Biologischen Laboratoriums der Wissenschaftlichen Station für Brauerei in München; eine Benennung der Arten kann selbstverständlich erst erfolgen, wenn die Untersuchungen völlig abgeschlossen sind).

Die morphologischen Studien an den Torulaceen sind schon abgeschlossen. Nachdem Will noch einzelne Untersuchungen zur Physiologie selbst ausgeführt hatte, übertrug er die weitere Untersuchung der ersten Untergruppe J. Dachs††). Die mir gestellte Aufgabe war die physiologische Untersuchung der zweiten Untergruppe und zweier der ersten Untergruppe angehöriger Formen, welche Dachs noch nicht in den Kreis seiner Versuche einbezogen hatte.

Die Fragestellung bei allen zunächst ausgeführten physiologischen Untersuchungen und dementsprechend die Reihenfolge der Versuche war folgende:

††) Dachs, J. Beiträge zur Kenntnis der Torulaceen. Dissertation München 1908. — Zentralblatt Bakt. II 1908 21 S. 386.

I.

Verhalten gegen verschiedene Zuckerarten.

Zu prüfende Zucker: Dextrose, Laevulose, Galaktose, Saccharose, Maltose, Milchzucker, Raffinose und Arabinose.

1. Prüfung nach der Kleingärmethode von P. Lindner†††).
2. Gärversuche im größeren Maßstab mit neutralem Hefewasser + 6 % Zucker.
   a) Alkoholbestimmung,
   b) Säurebildung,
   c) bei ausbleibender Gärung Bestimmung der Restzucker zum Beweis der Assimilation.

II.

Hemmung der Entwicklung durch Aethylalkohol.

Nährlösungen: Hefewasser, Peptonlösung und Reinhefebier.

a) Untersuchungen über die Entwicklungshemmung durch Aethylalkohol usw., Feststellung der Grenzwerte.
b) Assimilation des Aethylalkohols.
c) Die Säurebildung aus dem Aethylalkohol.

III.

Verhalten gegen organische Säuren.

Zu prüfende Säuren: Ameisensäure, Essigsäure, Milchsäure, Bernsteinsäure, Äpfelsäure, Weinsäure und Zitronensäure.

Nährlösung: Peptonlösung.

a) Untersuchung über die Entwicklungshemmung, Feststellung des Grenzwertes.
b) Assimilierung.

IV.

Wachstumsfähigkeit auf möglichst stickstoffreiem Nährboden.

Nährboden: Zucker-Mineralsalzlösung mit und ohne Pepton und aus dieser hergestelltes Nähr-Agar.

---

†††) Lindner, P. Wochenschrift für Brauerei 1900 17. S. 336.

V.

Enzymwirkungen.

Eventuell Anwendung der Capillaranalyse nach G r ü ß.

VI.

Bildung und Zerstörung von Farbstoffen.

Einfluß von Licht und Dunkelheit auf die Entstehung der Färbungen.

Nährböden: Würzegelatine, Hefewassergelatine, Peptonwassergelatine, Saccharose-Pepton-Agar, Saccharose-Pepton-Lösung und Saccharose-Hefewasser.

Zu den Versuchen kamen als Aussaatmaterial teils Strichkulturen auf 10 prozentiger gehopfter, schräg erstarrter Würzegelatine, teils in gehopfter Bierwürze gewachsene Kulturen zur Verwendung. Maßgebend für die Aussaat war der physiologische Zustand der Zelle und nicht das Alter der Kulturen; entsprechende Hinweise finden sich in der Beschreibung der Anordnung der einzelnen Versuchsreihen.

Als Nährflüssigkeit wurden verwendet:

1. gehopfte Bierwürze von 11,5° B.
2. Hefewasser nach Vorschrift von W i l l††††).
3. Hefewasser mit den entsprechenden Zusätzen an Zucker, Alkohol oder Säure.
4. Peptonlösung von folgender Zusammensetzung:
   0,5 g $CaHPO_4$
   4,55g KH_2PO_4
   2,1 g $MgSO_4$
   20,0 g Pepton Witte
   } auf 1 Liter Wasser.
5. Dieselbe Peptonlösung mit den entsprechenden Zusätzen an Zucker, Alkohol und Säure.
6. Flüssiger Nährboden o h n e Stickstoff
   0,5 g KH_2PO_4
   0,2 g $MgSO_4$
   2,0 g Sacharose
   } auf 100 g Wasser.

††††) Will, H. Anleitung zur biologischen Untersuchung und Begutachtung usw. München 1909. R. Oldenbourg S. 445.

7. Flüssiger Nährboden m i t Stickstoffquelle. Zusammensetzung wie bei 6 mit Zusatz von 2 g Pepton Witte pro 100 ccm.

Als feste Nährböden wurden verwendet:

1. Würzegelatine.
2. Hefezuckerwassergelatine.
3. Peptonzuckerlösunggelatine.
4. Saccharose-Agar.
5. Saccharose-Pepton-Agar.

Sterilisiert wurden die Nährböden am 1. und 3. Tag je 15 Minuten im Dampftopf; vor der Verwendung blieben die Gefäße mindestens 14 Tage zur Beobachtung stehen.

Vor und nach dem Versuch wurden die Kulturen mikroskopisch auf Reinheit geprüft, ebenso die Beschaffenheit der Zellen, das etwaige Vorhandensein toter Zellen, von Dauerformen, von Kristallbildung usw. festgestellt. Bei jedem Versuch wurden auch Parallelkulturen und Kontrollkulturen zur Beobachtung aufgestellt.

Soweit es die Versuchsanordnung und Versuchsdauer zuließ, wurden die Ergebnisse der Arbeiten von D a c h s, L e b e r l e und G e i g e r mit denen der vorliegenden Arbeit verglichen. Dementsprechende Bemerkungen finden sich in den einzelnen Kapiteln.

Die einschlägige Literatur wurde bei den einzelnen Versuchsreihen kurz besprochen.

I. Verhalten gegen verschiedene Zuckerarten.

Der Versuch hatte den Zweck, festzustellen, ob und in welchem Maße verschiedene Zuckerarten durch die acht Torula-Formen angegriffen werden, ob eine alkoholische Gärung (Spaltung des Zuckers in Alkohol und Kohlensäure) stattfindet, oder ob der Zucker in anderer Weise abgebaut wird. Nach der von P. Lindner[1]) angegebenen Klein-Gärmethode hatte schon früher H. Will[2]) die vorliegenden Organismen geprüft und bei einzelnen Arten überhaupt Gärvermögen nicht feststellen können, bei anderen Arten nur bei Gegenwart von einigen Zuckern. Er hat jedoch der Anschauung Ausdruck gegeben, daß möglicherweise der Verlauf der Gärung unter anderen Bedingungen besonders bei den weniger gärkräftigen Arten ein anderer als bei der Kleingärmethode sei oder daß bei anscheinend mangelndem Gärvermögen Vergärung nachgewiesen werden könne, wenn der Versuch in größerem Maßstab in mit Watte verschlossenen Gärkölbchen durchgeführt und die Beobachtung längere Zeit fortgesetzt werde, wobei sich die Organismen vermehren und die schwache Gärwirkung deutlicher hervortreten kann. Da nämlich die vorliegenden Organismen sehr luftliebend seien, befänden sie sich unter dem dicht schließenden Deckglas bei der Kleingärmethode nicht unter den besten Vegetationsbedingungen. Schon Will und Dachs[3]) haben dann durch vergleichende Untersuchungen an den Torula-Arten der ersten Gruppe, wobei die Gärversuche auch in größerem Maßstabe und bei längerer Dauer durchgeführt wurden, bewiesen, daß die Kleingärmethode nur zu orientierenden, aber nicht zu entscheidenden Versuchen Anwendung finden kann. Es sollten daher auch die vorliegenden, teils der ersten, teils der zweiten Gruppe angehörenden Arten in gleicher Weise untersucht wer-

1) a. a. O.

2) Zentralblatt Bakt. II 1906 17 S. 612.

3) a. a. O. S. 18.

4) Zentralblatt Bakt. II 1906 17 S. 89.

den. Geprüft wurden folgende Zucker: Dextrose, Laevulose, Galaktose, Saccharose, Maltose und Milchzucker, sowohl in größerem Maßstab, wie auch nach der Kleingärmethode, außerdem noch Raffinose und Arabinose nur nach der Kleingärmethode. Das Aussaatmaterial war sowohl für die Versuche im großen, wie auch für die nach der Kleingärmethode durchgeführten auf 10 prozentiger, schräg erstarrter, gehopfter Würzegelatine gewachsen. Die Gelatineröhrchen hatten ihren Platz bei 12—13 ° C im Keller erhalten, um ein Erweichen der Gelatine zu verhindern. Auf festem Nährboden wurde das Aussaatmaterial deswegen herangezüchtet, weil sich von jenem leicht annähernd gleiche Mengen der Organismen unter völligem Ausschluß des Nährbodens mit der Platinöse entnehmen lassen.

Die Ergebnisse der Kleingärmethode stimmten mit den von H. Will für die betreffenden Zuckerarten gefundenen vollkommen überein. Die außerdem noch in den Versuch einbezogenen Zuckerarten Raffinose und Arabinose wurden von allen acht Organismen vergoren und zwar mit verschiedener Energie.

Um möglichst gleichmäßige Bedingungen zu schaffen, wurde bei den Versuchen nach der Kleingärmethode in der Weise verfahren, daß eine Hefezuckerwasserlösung, die 6 % des zu prüfenden Zuckers enthielt, hergestellt, auf einzelne Freudenreichkölbchen gleichmäßig verteilt und am ersten und dritten Tage je 15 Minuten im Dampftopf sterilisiert wurde. Die Farbe der Zuckerlösungen veränderte sich dabei nur sehr wenig. Nachdem die Kölbchen mit den Versuchsorganismen geimpft waren, wurden diese gut verteilt. Mit dieser Mischung füllte man dann unter Anwendung einer sterilen Pipette die Grube des hohlgeschliffenen Objektträgers. Diese Abänderung der Arbeitsweise bedingt große Gleichmäßigkeit der Präparate und schafft außerdem dieselben quantitativen Verhältnisse, wie sie bei den Versuchen im großen Maßstab eingehalten wurden.

Die Kulturen wurden während 4 Tagen im Thermostaten bei 25 ° C gehalten und täglich auch mikroskopisch kontrolliert.

In der folgenden Tabelle 1 sind die Ergebnisse der wiederholten Versuche zusammengestellt. Das Alter des Impfmaterials war verschieden, in keinem Fall jedoch waren die Strichkulturen älter als 10 Tage.

No.	Dextrose	Laevulose	Galaktose	Saccharose	Maltose	Milchzucker	Raffinose	Arabinose
7	—	—	—	—	—	—	$+^{1}$	$+^{1}$
8	—	—	—	—	—	—	$+^{1}$	$+^{1}$
1	$+^{1}$	$+^{1}$	$+^{2}$	$+^{1}$	—	—	$+^{1}$	$+^{2}$
9	$+^{2}$	$+^{1}$	$+^{4}$	$+^{1}$	$+^{4}$	—	$+^{2}$	$+^{3}$
10	$+^{1}$	$+^{1}$	$+^{3}$	$+^{1}$	—	—	$+^{1}$	$+^{2}$
2	$+^{1}$	$+^{1}$	$+^{2}$	$+^{3}$	$+^{2}$	—	$+^{2}$	$+^{3}$
15	$+^{4}$	$+^{4}$	—	—	—	—	$+^{2}$	$+^{1}$
16	$+^{1}$	$+^{1}$	$+^{3}$	$+^{1}$	$+^{2}$	—	$+^{2}$	$+^{3}$

In der Tabelle bedeutet: + = Vergärung, — = keine Vergärung; der Exponent an dem Zeichen + bedeutet: ^{1} = starke Gärung, nach 24 Stunden die ganze Vertiefung des hohlgeschliffenen Objektträgers von einer Gasblase erfüllt. ^{2} = mäßige Gärung, desgleichen die Vertiefung des Objektträgers etwa nur zu Hälfte von einer Gasblase erfüllt. ^{3} = geringe Gärung, in der Flüssigkeit in der Vertiefung des Objektträgers nach 24 Stunden sehr kleine Gasblasen. ^{4} = sehr geringe Gärung, nach längstens 4 Tagen Gasblasen in der Flüssigkeit.

Die Versuchsanordnung bei den in größerem Maßstab und bei längerer Dauer angestellten Versuchen war folgende: neutrales (Phenolphtalein als Indikator) Hefewasser mit einem Zusatz von 6 % der zu prüfenden Zuckerart wurde in Mengen von je 100 ccm in Erlenmeyerkolben von 300 ccm Fassungsvermögen abgefüllt, dann am ersten und dritten Tage je 15 Minuten im Dampftopf sterilisiert, dann blieb es 14 Tage zur Beobachtung stehen. Die Zuckerarten erwiesen sich bei der chemischen Untersuchung als rein; das zur Verwendung kommende Hefewasser reduzierte weder für sich, noch nach dem Invertieren mit Salzsäure Fehling'sche Lösung.

Geprüft wurden folgende Zuckerarten: Dextrose, Laevulose, Galaktose, Saccharose, Maltose und Milchzucker.

Von Versuchen mit Raffinose und Arabinose in dieser Reihe wurde abgesehen, da schon durch die Kleingärmethode einwandfrei für alle acht Organismen die meist leichte Vergärbarkeit dieser beiden teuren Zuckerarten nachgewiesen war. Alle Kolben, mit Ausnahme derjenigen mit einem Zusatz von Maltose, trübten sich beim Sterilisieren schwach, klarten aber beim Erkalten völlig auf. Jeder Kolben erhielt je zwei Platinösen des Impfmaterials; dieses wurde möglichst gut verteilt. Da grundsätzlich die Organismen auch in möglichst kräftigem Zustand zur Einsaat kamen, war das Alter des Impfmaterials verschieden. Das Einsaatmaterial wurde vor dem Versuch mikroskopisch kontrolliert.

Die Kulturen blieben 10 Wochen bei einer durchschnittlichenTemperatur von 25 ° C. im Laboratorium stehen; rascher Temperaturwechsel wurde während der Beobachtungszeit nach Möglichkeit vermieden. Wie bei allen anderen Versuchen wurden auch hier Parallelkulturen aufgestellt, ebenso blieben auch von jeder Zuckerart 2 Kolben als Kontrollversuch stehen.

Die Beobachtungen über die äußeren Erscheinungen an den Kulturen wurden periodisch gemacht und in der Tabelle 2 zusammengestellt. Das Wachstum der vorliegenden Organismen war, abgesehen von Torula 8, welche sich in allen Zuckerarten gut vermehrt, am üppigsten bei Gegenwart von Dextrose, minimal bei Gegenwart von Milchzucker, in den anderen Zuckerlösungen annähernd gleichmäßig gut. Die äußeren Wachstumserscheinungen boten im allgemeinen das gleiche Bild, welches H. Will nach den Beobachtungen an den von ihm benutzten Nährlösungen verschiedener Art beschrieben hat. Eine interessante, bisher überhaupt noch nicht beobachtete Erscheinung zeigte sich bei Torula 9. Am Boden des Gefäßes mit Milchzuckerhefewasser waren während der 10 wöchentlichenBeobachtungszeit mehrere „Riesenkolonien" von 3—4 cm Durchmesser mit ganz ähnlichen äußeren Erscheinungsformen, wie auf festen Nährböden, entstanden. Ein Unterschied bestand nur in der größeren Lockerheit des Aufbaues, infolgedessen war auch die Oberflächenzeichnung nicht so scharf ausgeprägt.

P. Lindner und K. Saito[5]) beschreiben im Anschlusse an die Gärversuche, welche Lindner[6]) mit den Sammlungsbeständen des Instituts für Gärungsgewerbe in Berlin ausgeführt hat, Assimilationsversuche mit den gleichen Organismen. Dabei sollte festgestellt werden, ob die verschiedenen Zucker überhaupt assimiliert werden oder nicht. Im besonderen sollte geprüft werden, ob die Beobachtung an Endomyces Magnusii[7]), der, obwohl er in den Gärversuchen die Glukose und Fruktose glatt vergor, doch in deren Lösungen so gut wie kein Wachstum zeigte und erst nach Zugabe von Maltose, die unvergoren blieb, kräftig wuchs, eine Analogie findet. Das Gärvermögen war allerdings nur nach der Kleingärmethode festgestellt worden. Lindner und Saito kommen zu dem Schluß, daß die Torula- und roten Hefen sich den Kahmhefen anschließen. „Die Kahmhefen sind die am wenigsten wählerischen Hefen, sie sind fast omnivor gegenüber den angewandten Zuckerarten, selbst Dextrin und Laktose machen sie sich nutzbar. Gleichwohl finden sich Abstufungen in der Freßgier, einzelne sind sogar bescheiden, dem Dextrin gegenüber sind die Torula- und roten Hefen etwas zurückhaltender."

Die beiden Autoren haben allerdings nur recht wenige, zum Teil überhaupt nicht näher, zum Teil nur unvollkommen beschriebene Formen geprüft. Es ist daher die Frage wohl berechtigt, ob die Ergebnisse zu so weitgehenden Schlüssen hinreichend sind, und ob überhaupt solche Massenversuche, wie sie Lindner und Saito ausgeführt haben, geeignet sind, so wichtige Fragen zu lösen. Unsere mit typischen, durch Will und seine Schüler begrenzten Torula-Arten durchgeführten quantitativen Untersuchungen scheinen allerdings den von den genannten Autoren aufgestellten Satz, wenigstens hinsichtlich jener Arten, zu bestätigen. Die Mycodermen, nach Lindner's Bezeichnung Kahmhefen, sind

5) Wochenschrift für Brauerei 1910. 27 S. 509.
6) Ebenda 1900 27 S. 33.
7) Ebenda 1900 27 S. 525.

dagegen den Untersuchungen von Leberle[8]) zufolge viel wählerischer.

Zur quantitativen Bestimmung des gebildeten Alkohols wurde folgendes Verfahren eingeschlagen. Der chemischen Untersuchung ging regelmäßig eine mikroskopische Kontrolle der Reinheit der Kulturen voran.

Der Inhalt eines jeden Kulturkolbens wurde nach dem Neutralisieren zur Deckung des durch Verdunstung erlittenen Verlustes mit destilliertem Wasser auf 100 ccm aufgefüllt und dann von jenem eine Menge von 50 ccm abdestilliert. Im wässerigen Destillat wurde der Alkohol mittels des Zeiß'schen Eintauchrefraktometers bestimmt. Den Prozentgehalt (Gramm Alkohol in 100 ccm) ergaben die Wagner'schen Tabellen[9]).

Um jeden Substanzverlust zu vermeiden, wurde davon Abstand genommen, den Kolbeninhalt in einen Destillierkolben zu spülen. Der Kulturkolben diente gleich als Destillierkolben. Die in die Tabelle 3 eingesetzten Zahlen sind Mittelwerte aus mindestens 2 Bestimmungen. Die wässerigen Destillate zeigten alle neutrale Reaktion.

Die Gegenwart von Alkohol im Destillat wurde außerdem durch die Jodoformreaktion nachgewiesen: 2—3 ccm des wässerigen Destillats wurden nach gelindem Erwärmen im Reagenzrohr mit einigen Tropfen 10 prozentiger Kalilauge und hierauf so lange mit einer Jodlösung (1 Teil Jod, 1 Teil Jodkalium, 10 Teile Wasser) versetzt, bis sich die Flüssigkeit schwach braun gefärbt hatte. Auf vorsichtigen Zusatz von einigen Tropfen Kalilauge verschwand die Jodfarbe wieder. War viel Alkohol zugegen, so entstand sofort ein gelber Niederschlag von Jodoform, bei Spuren erst nach einiger Zeit.

Die Jodoformreaktion wurde zur Kontrolle wiederholt gemacht, fiel aber in einigen Fällen äußerst schwach aus. Deshalb wurde das erste Destillat einer erneuten fraktionierten Destillation unterworfen und mit den ersten 10 ccm des Destillats die Jodoformreaktion gemacht. Nun trat in

8) a. a. O. S. 49.

9) Wagner, Bernhard. Über quantitative Bestimmungen wässriger Lösungen mit dem Zeiß'schen Eintauchrefraktometer. Dissertation Jena 1903.

allen Fällen ein deutlicher gelber Niederschlag auf und das mikrospikosche Bild (gelbe hexagonale Täfelchen) bewies neben dem charakteristischen „safranähnlichen“ Geruch die bei allen Reaktionen eingetretene Bildung von Jodoform.

Da das verwendete Hefenwasser absolut neutral war und auch die wässerigen Destillate neutrale Reaktion zeigten, damit also Säuren, wie Milchsäure oder die beim Kochen aus ihr entstehende Laevulinsäure, welche ja auch Jodoformreaktion geben würden, ausgeschlossen waren, konnte der positive Ausfall der Jodoformreaktionen nur als Beweis fürdie Bildung von Aethylalkohol in den zuckerhaltigen Nährlösungen gelten.

Sämtliche acht Organismen hatten also die verwendeten acht Zuckerarten vergoren, wenn auch die gebildete Alkoholmenge in den einzelnen Fällen sehr gering war. Sie genügte jedoch vollständig, um sie refraktometrisch und durch die Jodoformreaktion nachweisen zu können.

Sehr auffällig ist die Verschiedenheit zwischen den Ergebnissen der Kleingärmethode und den Versuchen im großen, besonders bei den zur ersten Gruppe der Torulaceen gehörenden Arten 7 und 8; es ist eben die Gärung bei diesen Organismen so schwach, daß sie durch die Kleingärmethode während der kurzen Versuchsdauer nicht mehr nachweisbar ist.

Tabelle 3.
Alkoholbestimmung mit dem Eintauch-Refraktometer von Zeiß. Prozent.

No.	Dextrose	Laevulose	Galaktose	Saccharose	Maltose	Milchzucker
7	0,25	0,23	0,14	0,95	0,12	0,16
8	0,03	0,07	0,85	0,04	0,39	0,07
1	1,58	1,66	0,73	1,46	0,77	0,27
9	0,94	1,65	0,35	2,19	0,28	0,22
10	0,15	0,53	0,15	1,68	0,49	0,21
2	2,28	2,13	1,10	2,00	0,67	0,28
15	0,04	0,02	0,18	0,25	0,18	0,20
16	0,25	0,23	0,13	0,67	0,41	0,26

Das Gleiche gilt für die der zweiten Gruppe angehörenden Torula 1 und 10 hinsichtlich der Maltose und des Milchzuckers,

für Torula 2, 9 und 16 hinsichtlich des Milchzuckers allein. Auffällig ist ferner, daß, obwohl sich bei Torula 15 in den Versuchen mit Dextrose und Laevulose schon durch die Kleingärmethode eine, wenn auch sehr geringe Vergärung nachweisen ließ, trotzdem die erhaltenen Alkoholmengen bedeutend geringer sind, als bei den Versuchen mit Galaktose, Saccharose, Maltose und Milchzucker, bei welchen alkoholische Gärung erst bei den Versuchen im großen nachzuweisen war.

Die Hauptursache dieser Verschiedenheit in den Ergebnissen ist in der Verschiedenheit der Versuchsbedingungen zu suchen.

Vergleicht man die gefundenen Alkoholwerte zuerst unter sich, so sieht man, daß die Torula 10 dadurch ausgezeichnet ist, daß sie gegenüber den derselben Gruppe angehörenden Arten 1, 2, 9, 15 und 16 relativ große Mengen von Alkohol unter denselben Versuchsbedingungen zu bilden vermag.

Vergleicht man die Werte der Tabellen mit den von Dachs[10]) für die von ihm untersuchten Torula-Arten der ersten Gruppe festgestellten, so ergibt sich folgendes.

Die ebenfalls der ersten Gruppe angehörenden Torula-Arten 7 und 8 sind die schwächsten Alkoholbildner ihrer Gruppe, die überhaupt mit Ausnahme der Torula-Arten 5 und 17 bezüglich der Alkoholbildung gegen die zweite Gruppe zurücksteht.

Tabelle 4.

Titrimetrische Säurebestimmung nach 2½ Monaten mit n/10 Natronlauge und Phenolphtaleïn als Indikator, in 10 ccm der Flüssigkeit.

No.	Dextrose	Laevulose	Galaktose	Saccharose	Maltose	Milchzucker
7	3,0	4,4	4,2	4,25	2,27	1,97
8	4,7	2,2	1,7	5,55	4,7	2,43
1	2,7	3,3	4,05	7,0	2,52	1,69
9	8,95	6,9	10,25	6,25	3,75	1,43
10	3,4	4,0	2,70	4,75	2,6	1,36
2	3,6	4,9	1,73	4,05	3,7	1,47
15	2,5	4,45	3,0	6,35	4,1	4,30
16	3,6	5,06	3,35	6,8	3,95	1,55 ccm

10) a. a. O. S. 16.

Den von Leberle[11]) untersuchten vier Mycodermaformen geht überhaupt das Gärvermögen ab, vielmehr wurde der Zucker direkt oxydiert; Galaktose, Maltose und Milchzucker, desgleichen Saccharose werden von ihnen nicht assimiliert.

Die von Geiger[12]) untersuchten Pseudomonilia-Arten vergären Milchzucker, Maltose und Dextrin überhaupt nicht, Dextrose und Laevulose deutlich; in Saccharose- und Galaktose-Lösung werden nur äußerst geringe Mengen Alkohol gebildet.

Das Verhalten der Torulaceen gegen die Zuckerarten gibt also ein sehr wertvolles Unterscheidungsmerkmal gegenüber den anderen bisher genauer untersuchten Gruppen der Sproßpilze ohne Sporenbildung und für die Unterscheidung der beiden bis jetzt aufgestellten Gruppen der Torulaceen selbst ab.

Die ursprünglich neutrale Nährlösung reagierte am Schluß des Versuchs sauer, es war also parallel mit der Alkoholbildung bei dem Gärungsprozeß außer der Kohlensäure noch andere Säure gebildet worden.

Für die Torulaceen der ersten Untergruppe ist schon von Dachs[13]) die Bildung von Säure bei analogen Versuchen nachgewiesen worden.

Für die von ihm untersuchten Mycodermaformen hat Leberle[14]) nachgewiesen, daß der Assimilation der verschiedenen Zuckerarten regelmäßig eine geringe Änderung des Säuregehalts parallel geht.

Bei den Pseudomonilien nimmt in den Hefezuckerwasserlösungen der Säuregrad in den meisten Fällen zu, doch ist die Zunahme keine beträchtliche; manchmal war der Säuregrad am Schluß des Versuchs gleich groß wie anfangs.

Die zur Säurebestimmung dienenden Versuchskolben wurden nach 2½ Monaten auf 100 ccm aufgefüllt und die Titration in 10 ccm mit n/10 Natronlauge und Phenolphtalein als Indikator ausgeführt. Die Zahlen der Tabelle 4

11) a. a. O. S. 56.
12) a. a. O. S. 140.
13) a. a. O. S. 14.
14) a. a. O. S. 52.

sind Mittelwerte aus mindestens zwei Bestimmungen. Ein Schluß aus diesen Zahlen auf die absolute Menge der gebildeten Säure ist nicht zulässig, da, wie aus später mitgeteilten Versuchen ersichtlich, die Organismen Säurebildner und -verzehrer sind. Säurebildung und -verzehrung erfolgen aber auch in verschieden schnellem Tempo und verlaufen nebeneinander. Die eine Art hat also nach 10 Wochen den höchsten Säurewert, der das Endergebnis aus Säurebildung und Säureverbrauch darstellt, vielleicht noch nicht erreicht, während dies für eine andere Art zutrifft. Ein klares Bild kann nur ein Versuch geben, in welchem die erzeugte Säuremenge in verschiedenen kürzeren Zeitabschnitten bestimmt wird, wie er später besprochen werden soll.

Ein Vergleich mit den von Dachs für die von ihm untersuchten Torula-Arten der ersten Gruppe ermittelten Säurewerten zeigt, daß die ebenfalls zur ersten Gruppe gehörenden Arten 7 und 8 unter denselben Versuchsbedingungen stärkere Säurebildner sind, als die Arten 3 + 4, 5, 6, 11 und 17.

Ferner lehrt die Tabelle 5 folgendes.

Die der zweiten Gruppe angehörenden Arten 1, 2, 9, 10, 15 und 16 sind unter denselben Bedingungen stärkere Säurebildner, als die von Dachs untersuchten Arten 3 + 4, 5, 6, 11 und 17 der ersten Gruppe.

Ein Vergleich mit den von Leberle ermittelten Säurezahlen bei Versuchen mit verschiedenen Zuckerarten ist nicht angängig, weil diese Versuche nur während eines Zeitraumes von 35 Tagen durchgeführt wurden.

Die von Geiger untersuchten 4 Pseudomonilia-Arten sind unter denselben Versuchsbedingungen schwächere Säurebildner, als die untersuchten acht Torula-Arten.

Also auch in Beziehung auf die Säurebildung ergeben sich brauchbare Unterscheidungsmerkmale.

Die Beobachtung über Farbstoffbildung an den Kulturen mit den zuckerhaltigen Nährlösungen werden im Anschluß an einen späteren Versuch, der speziell über Farbstoffbildung durch die vorliegenden Torula-Arten handelt, besprochen werden.

II. Verhalten gegenüber Aetylalkohol.

Festgestellt wurde:

1. Die Hemmung der Entwicklung in den benutzten Nährlösungen.
2. Alkoholverzehrung und Säurebildung während der Entwicklung.

Die angewandten Nährflüssigkeiten waren folgende:

1. Hefewasser,
2. Peptonlösung,
3. Reinhefebier mit einem Extraktgehalt von 5,25 % und 3,78 Volumenprozent Alkohol.

Diese Nährlösungen wurden hauptsächlich deshalb gewählt, weil Vergleichswerte gegenüber den von Dachs[15]) untersuchten Torula-Formen der ersten Gruppe gewonnen werden sollten, welcher dieselben Nährlösungen verwendete.

Das Reinhefebier wurde einem Reinzuchtapparat der Wissenschaftlichen Station für Brauerei in München entnommen. Es blieb, da es nicht ganz klar war, vor dem Versuch in einem 5 Liter-Pasteurkolben drei Wochen zur Beobachtung seiner Reinheit stehen; während dieser Zeit hatte sich die im Bier enthaltene Hefe fast vollständig am Boden abgesetzt.

Das klare Bier wurde in Mengen von je 10 ccm in sterile Freudenreichkölbchen von 20 ccm folgendermaßen abgefüllt:

Auf einem neben dem Arbeitstisch stehenden Schrank wurde der Pasteurkolben in geneigter Lage aufgestellt; er war mittels eines Schlauches, an dem sich ein Quetschhahn befand, mit einer Überlaufbürette mit automatischer Nullpunkteinstellung verbunden. Von dieser Bürette war ein Schlauch durch ein in der oberen Ecke des auf dem Tische stehenden Impfkastens befindliches Loch in jenen geführt. Am Ende des Schlauchs befand sich ein spitz ausgezogenes Glasrohr und oberhalb von diesem ein Quetschhahn. Sämtliche Teile

15) a. a. O. S. 19.

des Apparates waren sterilisiert worden. Durch die beschriebene Anordnung sollte ein Neigen des Pasteurkolbens beim Abfüllen und damit ein Aufrütteln der abgesetzten Hefe vermieden werden. Die beiden Öffnungen des oberen Kugelansatzes der Überlaufbürette waren mit einem Gummi- bezw. Wattepfropfen versehen.

Die mit dem Reinhefebier gefüllten Freudenreichkölbchen erhielten später die entsprechenden Zusätze an Alkohol, wobei der ursprüngliche Alkoholgehalt des Reinhefebieres berücksichtigt wurde. Sie blieben einige Zeit zur Beobachtung der Reinheit stehen.

Das neutrale Hefewasser und die Peptonlösung wurde ebenfalls in Mengen von je 10 ccm in Freudenreichkölbchen pipettiert und dann am ersten und dritten Tag je 15 Minuten im Dampftopf sterilisiert. Sie blieben ebenfalls einige Zeit zur Beobachtung stehen und erhielten später die entsprechenden Zusätze an Alkohol.

Grundsatz war auch bei diesen, wie bei den anderen Versuchen, nicht möglichst gleichalterige, sondern möglichst gleich kräftige Kulturen zur Einsaat zu verwenden. Es wurde also angestrebt, das Einsaatmaterial in möglichst gleichem physiologischem Zustand zu verwenden. Das Impfmaterial wurde teils in Würze, teils auf schräg erstarrter Gelatine herangezogen. In ersterem Falle wurden drei Tropfen des Bodensatzes mittels steriler Capillare, in letzterem Falle eine Platinöse des Belags eingeimpft.

Torula 7 und 8 blieben bei den Versuchen mit Reinhefebier unberücksichtigt, da, wie schon H. Will[16]) festgestellt hat, bei jenen Arten eine Vermehrung der Einsaat in Reinhefebier nicht stattfindet.

Das Impfmaterial wurde einer eingehenden mikroskopischen Untersuchung hinsichtlich Beschaffenheit der Zellen, Anzahl vorhandener toter Zellen usw. unterzogen. Stets wurden Parallelkulturen und Kontrollkulturen ohne Alkoholzusatz zur Beobachtung aufgestellt.

---

16) III. Mitteil. S. 143.

1. Grenzwerte für die Entwicklungshemmung durch Aethylalkohol.

Die Kulturen blieben vier Wochen im Thermostaten bei 20° C zur Beobachtung stehen. Die Beobachtungen über die äußeren Wachstumserscheinungen sind in den Tabellen 7 a und b (S. 106—137) zusammengestellt.

Tabelle 7.

a) Wachstumserscheinungen der Torula-Formen in alkoholhaltigen Hefewasserkulturen.

b) Wachstumserscheinungen der Torula-Formen in alkoholhaltiger Peptonlösung.

Von der ursprünglichen Absicht, auch über die Wachstumserscheinungen der Organismen in Reinhefebier Aufzeichnungen zu machen, wurde aus folgenden Gründen abgesehen:

1. Eine genaue Beobachtung der innerhalb der Nährflüssigkeit auftretenden Wachstumserscheinungen war durch die dunkle Farbe des Reinhefebieres sehr erschwert. Die Farbentiefe betrug 7,5, bestimmt mit dem Brand'schen[17]) Kolorimeter.

2. Die Beobachtung einer etwaigen Trübung, des Wachstums an der Gefäßwand empor, sowie der Farbe und äußeren Beschaffenheit des Bodensatzes war durch jene Ursache und ferner noch dadurch erschwert, daß der Absatz zum Teil aus Kulturhefe bestand, die sich nach dem Abfüllen, wenn auch in geringer Menge, abgesetzt hatte.

3. Die Wachstumserscheinungen, soweit sie sich auf der Flüssigkeitsoberfläche abspielten, waren analog denjenigen, wie sie sich auf den Kulturen mit Hefewasser und Peptonlösung darboten.

Die sehr geringen Mengen von Kulturhefe, die sich am Boden abgesetzt hatten, beeinträchtigen nach H. Will[18]) bei reichlichem Zutritt von Luft das Wachstum der Torula-Arten nicht wesentlich.

---

17) Brand, J. Zur Colorimetrie der Würzen und Biere. Zeitschrift ges. Brauw. 1893. 26 S. 275 und 1899 22 S. 251.

18) Zeitschrift ges. Brauw. 1903 26 S. 301.

Den Beobachtungen im Reinhefebier kommt nicht der Wert zu, wie den in den beiden anderen Nährlösungen. Nach den Versuchsergebnissen von Dachs[19]) hätten die Versuche mit Reinhefebier überhaupt wegbleiben können, sie wurden jedoch in Hinsicht auf die Verhältnisse des Brauereibetriebes mit aufgenommen.

Zum Verständnis der in den Tabellen gebrauchten Bezeichnungen für die Art und Weise des Wachstums, welches in den Kulturen in die Erscheinung trat, sei bemerkt, daß übereinstimmend von den von Dachs bei der Untersuchung der Torula-Arten der ersten Gruppe gebrauchten Bezeichnungen mit „Ringbildung" ein stärkeres Wachstum längs des Flüssigkeitsrandes gekennzeichnet ist. Wenn sich die Organismen noch weit über den Flüssigkeitsrand auf der Wandung des Gefäßes ausbreiteten, ist die Bezeichnung „Randbildung" gewählt. Diese Bezeichnungen wurden deshalb beibehalten, um den Vergleich des Wachstums der vorliegenden Organismen mit denen der ersten Gruppe zu erleichtern.

Bemerkt sei, daß sich in den Kölbchen mit Peptonlösung, die einen höheren Alkoholzusatz erhalten hatten (von 6 % ab), ein schwacher, aus Eiweißstoffen der Nährlösung bestehender Niederschlag absetzte, der die Beobachtung des von den Organismen gebildeten Absatzes erschwerte.

Eine schon von Will und Dachs[20]) bei ihren Untersuchungen über Torula-Arten beobachtete Erscheinung trat auch bei den vorliegenden Versuchen auf.

Im allgemeinen ist anfangs das Wachstum der Organismen in den Kulturen ohne Alkoholzusatz besser, als in den mit Alkohol versetzten; später ändert sich das Verhältnis zugunsten der alkoholischen Kulturen. Der Alkohol hindert anfangs die Entwicklung, wird aber später von den Organismen als Nährboden ausgenützt.

---

19) a. a. O. S. 31.

20) a. a. O. S. 32, Will, H. Handbuch der technischen Mykologie von Franz Lafar 4 S. 289.

Aus den Tabellen geht folgendes hervor:

Torula 7. In Hefewasser mit und ohne Alkoholzusatz kommt es während der Versuchsdauer zu keinerlei Hautbildung. Die Entwicklung wird im Gegensatz zu den anderen Vertretern derselben Gruppe durch mäßigen Alkoholzusatz nicht begünstigt, sämtliche alkoholischen Kulturen entwickeln sich langsamer, wie die alkoholfreien Kulturen. In Peptonlösung ohne Alkoholzusatz kam es während der Versuchsdauer zu keinerlei Hautbildung, in den Kulturen mit einem Alkoholgehalt von 1—3 % war die Vermehrung nicht merklich besser, wie beim Kontrollversuch, in den Kulturen mit einem Alkoholzusatz von 3—7 % war die Entwicklung deutlich besser wie bei den übrigen Kulturen.

Torula 8. In Hefewasser allein und in den Kulturen bis zu 3 % Alkoholzusatz kommt es schon am 4. Tage zur Bildung einer geschlossenen Haut, die sich immer wieder neu bildet. Bis zu 3 % Alkohol findet deutliche Begünstigung, durch höheren Alkoholgehalt deutliche Hemmung des Wachstums statt.

Die Kulturen in Peptonlösung allein zeigen schwächeres Wachstum, wie diejenigen in Hefewasser und wie diejenigen mit einem Zusatz von 1—6 % Alkohol.

Torula 1. Die Entwicklung in Hefewasser allein ist etwas schwächer, als in den Kulturen mit einem Zusatz von 1—4 % Alkohol. Die Haut ist am 4. Tag noch nicht ganz geschlossen.

In Peptonlösung allein ist die Entwicklung schwach, schwächer wie in den Kulturen mit einem Zusatz von 1—5 % Alkohol, in keiner Kultur kommt es während der Versuchsdauer zu einer geschlossenen Hautbildung.

T o r u l a 9. Hefewasser. Die Entwicklung der Kontrollkulturen ist schwächer, wie die der Kulturen mit einem Alkoholgehalt von 1—6 %, bei welchen Haut, Ring, Rand und Absatz kräftiger entwickelt sind.

In Peptonlösung allein schwächere Entwicklung wie in den Kulturen mit 1—7 % Alkohol.

T o r u l a 10. In Hefewasser findet während der Versuchsdauer durch Alkoholzusatz keine merkliche Begünstigung statt, was sich wohl durch die sehr langsame Entwicklung dieser Art erklären läßt.

In Peptonlösung findet durch einen Zusatz von 1—5 % Alkohol deutliche Begünstigung statt.

T o r u l a 2. In Hefewasser Begünstigung durch Alkoholzusatz von 1—6 %. Es kommt in fast allen Kulturen zur Bildung einer geschlossenen Haut.

In Peptonlösung allein ist das Wachstum deutlich schwächer, als in den Kulturen mit 1—6 % Alkoholzusatz.

T o r u l a 15. In Hefewasser und Peptonlösung findet durch einen Zusatz von 1—6 % Alkohol deutliche Begünstigung statt. Sehr kräftige Hautbildung.

T o r u l a 16. In Hefewasser ist die Begünstigung durch einen Zusatz von 1—6 % Alkohol weniger deutlich, wie in Peptonlösung.

Über den Alkoholverbrauch der Torula-Arten während der Entwicklung gibt ein späterer Versuch Aufschluß.

Die folgende Tabelle gibt an, bei welchen Alkoholmengen äußerlich eine Entwicklung durch Zunahme des Bodensatzes, Hautbildung usw. nicht mehr sichtbar ist (Entwicklungshemmung). Es kann dabei wohl anfangs noch eine sehr geringe Vermehrung der Zellen stattfinden, die Organismen gehen aber dann in einen Erstarrungs- oder Ruhezustand über. Die Mehrzahl der Zellen bleibt lebendig, oder es werden Dauerzellen gebildet.

Tabelle 6.
Entwicklungshemmung.

Nummer	7	8	1	9	10	2	15	16
Hefewasser	7	7	9	9	8	8	17	9
Peptonlösung	7	7	9	9	8	8	17	9
Reinhefebier	—	—	13	13	12	11	19	10

Die Zahlen der Tabelle bedeuten den Alkoholgehalt in Vol. %.

Aus der Tabelle geht hervor, daß die Werte für die Entwicklungshemmung bei Verwendung von Hefewasser und Peptonlösung vollständig übereinstimmen, beim Reinhefebier dagegen viel höher liegen. Die gleiche Beobachtung hat Dachs an den von ihm untersuchten Torula-Arten der ersten Gruppe gemacht.

Die zur ersten Gruppe gehörenden Arten 7 und 8 zeigen zwar von den vorliegenden Organismen die schwächste Resistenz gegen Alkohol, innerhalb ihrer Gruppe sind sie jedoch wie ein Vergleich mit den Dachs'schen Tabellen zeigt, die am wenigsten gegen Alkohol empfindlichen Arten.

Beim Vergleich der Arten der zweiten Gruppe untereinander fällt besonders die starke Widerstandsfähigkeit der Torula 15 gegenüber Alkohol auf. Der Wert für die Entwicklungshemmung ist hier teilweise doppelt so hoch, wie bei den anderen Arten derselben Gruppe. Dieser Eigenschaft entspricht, wie in einem späteren Versuch gezeigt wird, die Fähigkeit, in derselben Zeit größere Mengen an Aethylalkohol zu verbrauchen, wie die übrigen Vertreter derselben Gruppe.

Diejenigen Mengen von Alkohol, überhaupt aller Zusätze zu den Nährlösungen, bei welchen nicht nur Hemmung zu ausgiebiger Entwicklung eintritt, sondern die Abtötung der Organismen erfolgt, ist durch äußerliche Beobachtung der Kulturen kaum zu erkennen. Auch in diesem Fall kann anfangs noch eine sehr geringe Vermehrung, die aber vielfach abnorme Zellformen hervorbringt, erfolgen, die Zellen sterben jedoch bald ab. Um auch denjenigen Wert, bei welchem alle Zellen während der Versuchsdauer von 28 Tagen durch den zugesetzten Aethylalkohol abgetötet wurden, festzustellen, verfuhr man in folgender Weise.

Aus den Kölbchen wurde im Impfkasten der größte Teil der Nährlösung vorsichtig abgegossen und durch sterile Bierwürze ersetzt. Auf diese Weise gelang es, diejenigen Kölbchen zu ermitteln, bei welchen alle Zellen tot waren. Denn während z. B. ein Kölbchen mit einem Alkoholgehalt von x % nach 8 Tagen kräftige Entwicklung zeigte, war von einer solchen bei dem folgenden Kölbchen mit einem Alkoholgehalt von x + 1 % nichts zu bemerken.

Die folgende Tabelle enthält diejenigen Werte (Vol.-Proz. Alkohol), durch welche innerhalb der Versuchsdauer alle Zellen getötet wurden.

Nummer	7	8	1	9	10	2	15	16
Hefewasser . . .	9	9	11	10	11	11	21	12
Peptonlösung . .	9	9	11	10	11	11	21	12

Der Versuch mit Reinhefebier wurde in der Tabelle nicht weiter berücksichtigt, da sich gegenüber den für die Entwicklungshemmung angegebenen Zahlen Widersprüche ergaben, die wohl auf die früher besprochene Unsicherheit der Beobachtungen über die Vermehrung zurückzuführen sind.

Auch bei den vorliegenden Versuchen trat die schon von Will[21]) bei Reinhefebier erwähnte Erscheinung von Formänderung der Kulturhefe auf. Diese hatte in allen Kulturen Sproßverbände langgestreckter, wurstförmiger Zellen gebildet, auch konnte in vielen Kulturen die Gegenwart von Dauerzellen festgestellt werden. Die Erscheinung trat bei den verschiededenen Torula-Arten in verschiedenem Grade auf; im vorliegenden Fall war sie bei Torula 15 am stärksten ausgeprägt, während sie bei der früheren Untersuchung[22]) am meisten in Kulturen mit der Art 12 auffiel.

Aus der Tabelle geht hervor, daß bei beiden Nährlösungen der zur vollständigen Abtötung innerhalb der Versuchsdauer nötige Alkoholgehalt derselbe ist und die Art der Nährlösung dabei ohne Bedeutung bleibt.

Torula 8 hatte in den Hefewasserkulturen mit einem Alkoholgehalt von 1—3 % zahlreiche Riesenzellen gebildet, in Peptonlösung konnten solche dagegen nicht beobachtet werden.

21—22) II. Mitteilg. S. 143.

Die Reaktion des Hefewassers und der Peptonlösung war bei Beendigung des Versuchs teils neutral, teils schwach sauer, das Reinhefebier zeigte durchwegs neutrale Reaktion.

Die Vermehrung der Organismen war am besten im Hefewasser, weniger gut in Peptonlösung und relativ am der schwächsten im Reinhefebier. Dies ist deswegen sehr auffällig, weil der Wert für die äußerlich erkennbare Entwicklungshemmung bezüglich Alkohol bei Hefewasser und Peptonlösung gleich hoch, bei Reinhefebier dagegen viel höher befunden wurde, deckt sich aber mit den von Will[23]) und Dachs[24]) gemachten Beobachtungen bei Versuchen ähnlicher Art mit Torulaformen.

2. Alkoholverzehrung während der Entwicklung und Säurebildung in den Kulturen.

Nachdem aus der ersten Versuchsreihe der Schluß zu ziehen war, daß der Alkohol in verschiedenem Grade auf die Entwicklung von Einfluß war, sollte durch den zweiten Versuch ein Bild darüber gewonnen werden, in welchem Maße der Aethylalkohol bei der Ernährung und Vermehrung der Organismen verwertet wird. Gleichzeitig sollte festgestellt werden, ob mit der Verzehrung des Alkohols Säurebildung parallel geht.

Die Anordnung des Versuchs war folgende: Pasteurkolben wurden mit je 95 ccm Hefewasser (neutral und nach Vorschrift[25]) bereitet) beschickt, das nach dem Sterilisieren einen Zusatz von je 5 ccm absoluten Alkohols erhielt. Dann bekam jeder Kolben einen Zusatz von drei Tropfen des Impfmaterials; dieses war in Würze herangezogen. Verwendet wurden Haut und Bodensatz, nachdem die Würze möglichst vollständig abgegossen und der verbleibende Rest gut gemischt war. Der Zusatz von 5 Volumenprozent Alkohol wurde deswegen gewählt, weil er sich im allgemeinen als optimal für das Wachstum der Torula-Formen erwiesen hatte.

23) II. Mitteilg. S. 143.
24) Dachs, J., Dissertation S. 19.
25) Siehe ††††).

Der Alkohol- und Säuregehalt wurde periodisch bestimmt, zu jeder Bestimmung wurden zwei Pasteurkolben benutzt. Dementsprechend war für jeden Organismus eine größere Anzahl von Kulturen hergestellt worden.

Zur Bestimmung des Alkoholgehalts wurde auf folgende Weise verfahren. Der Inhalt eines Pasteurkolbens wurde in einen 300 ccm Erlenmeyerkolben gegossen und mit je 30 ccm destillierten Wassers quantitativ nachgespült und dann neutralisiert. Nun wurden je 50 ccm abdestilliert und im Destillat der Alkoholgehalt mittels des Zeiß'schen Eintauchrefraktometers bestimmt.

Zur Bestimmung des Säuregehalts wurden je 10 ccm mit n/10 Natronlauge und Phenolphtalein als Indikator titriert.

Um zu erfahren, welche Mengen an Alkohol während der Versuchsdauer durch Verdunstung sich der Einwirkung der Organismen entzogen, waren 10 Pasteurkolben mit ursprünglich 4,84 Gewichtsprozent Alkohol, jedoch ungeimpft, stehen geblieben. Nach 6 Monaten wurde ihr Alkoholgehalt auf die oben beschriebene Weise refraktometrisch bestimmt. Jener war von 4,84 Gewichtsprozent auf 4,55 Gewichtsprozent im Durchschnitt herabgegangen. Der Verlust durch Verdunstung betrug also 0,29 Gewichtsprozent. Da sich außerdem ergab, daß der Verdunstungsverlust bei allen Pasteurkolben nahezu der gleiche war, so wurde jenem nicht weiter Rechnung getragen. Es handelte ja sich bei dem Versuch nur um die Gewinnung von Vergleichswerten. Die gefundenen Werte für Alkohol und Säure sind in den Tabellen Nr. 8 a und b niedergelegt.

Das Wachstum war im allgemeinen normal und bei allen mit der gleichen Torula-Art geimpften Kolben gleich stark, soweit sich das nach den äußeren Erscheinungen an den Kulturen beobachten läßt. (Vergl. Tab. 5. S. 158.)

Bei Torula 7 und 8, insbesondere aber bei Torula 7, die sich, wie aus allen bisher gemachten Beobachtungen hervorgeht, nicht stark vermehren, trat nach etwa 45 Tagen eine Entwicklungshemmung ein; diese machte sich neben der äußeren Erscheinung auch deutlich dadurch geltend, daß von dem genannten Zeitpunkt ab die Fähigkeit, Alkohol zu ver-

zehren und Säure zu bilden, aufhörte. Nach 6 Monaten waren in den Kulturen dieser beiden Organismen alle Zellen tot, was dadurch festgestellt wurde, daß nach Ersatz des alkoholischen Hefewassers durch gehopfte Bierwürze keine Entwicklung eintrat.

Bei Abbruch des Versuchs war die ursprünglich zugesetzte Alkoholmenge noch nicht verbraucht. Von dem ursprünglich zugesetzten Alkohol wurden innerhalb 6 Monaten verbraucht von:

Nummer	7	8	1	10	9	2	16	15
	8,67	13,63	27,69	35,09	50,41	54,75	58,67	62,81 %

Die am besten sich vermehrenden Organismen (vgl. Tabelle) hatten also auch den meisten Alkohol verbraucht. Die gefundenen Werte für die Säurebildung sind annähernd proportional den Werten für die Alkoholverzehrung. Dagegen konnte eine einfache Beziehung zwischen dem Zeitpunkt beginnender Säurebildung und Intensität der Alkoholverzehrung bezw. Säurebildung nicht festgestellt werden.

Der Vergleich der für die Alkoholverzehrung und Säurebildung gewonnenen Zahlen mit den in der Tabelle verzeichneten Wachstumserscheinungen führt zu dem Schluß, daß zwischen jenen Zahlen und der Entwicklung einer Oberflächenvegetation eine Beziehung derart besteht, daß je rascher Hautinselchen entstehen, je schneller sich diese zusammenschließen und eine starke Haut entwickeln, desto mehr Alkohol verzehrt und dementsprechend auch mehr Säure gebildet wird. Torula 15 mit sehr starker, etwa 5 mm dicker Haut nach Verlauf von 190 Tagen, überhaupt mit sehr starker Oberflächenvegetation, zeigt die relativ stärkste Alkoholabnahme, gleichzeitig aber auch die höchsten Zahlen für die Säurebildung.

Von diesem Gesichtspunkt aus bietet es nichts Auffälliges, wenn bei Torula 10, bei welcher sich die Oberflächenvegetation sehr langsam und verhältnismäßig spät entwickelt, der Alkoholverbrauch ein relativ geringer ist, und die Säurebildung erst spät (gegen den 50. Tag) einsetzt, dann aber ziem-

lich rasch denselben Grad wie bei Torula 1, bei welcher die Säurebildung schon am 15. Tag einsetzte, erreichte.

Die untersuchten Torulaformen sind schwächere Alkoholverzehrer und schwächere Säurebildner, wie die von Leberle[26]) untersuchten Mycodermaformen, sie sind ferner stärkere Alkoholverzehrer, als die von Geiger[27]) untersuchten Pseudomonilia-Arten.

Für die der ersten Gruppe der Torulaceen angehörenden Arten sind analoge Versuche von Dachs[28]) beschrieben worden. Er wandte eine ursprüngliche Menge von 2,56 Gewichtsprozent Alkohol an, entsprechend der geringen Widerstandsfähigkeit der von ihm untersuchten Torula-Formen gegenüber Alkohol. Die Dauer seiner Versuche betrug 2 Monate.

Vergleicht man den Stand der Alkoholverzehrung der vorliegenden Organismen mit der Dachs'schen Tabelle, so ergibt sich folgendes.

Die zur ersten Gruppe gehörenden Arten 7 und 8, die nach 2 Monaten 0,39 bezw. 0,62 Gewichtsprozent Alkohol verzehrt haben, bleiben damit innerhalb der von Dachs ermittelten Werte für die von ihm untersuchten Arten der ersten Gruppe, Nr. 11 allein zeigt einen höheren Wert, der denjenigen der zweiten Gruppe nahesteht. Die Arten der zweiten Gruppe sind stärkere Alkoholverzehrer als diejenigen der ersten Gruppe.

Zum Vergleich sei eine Tabelle eingefügt, welche die nach zwei Monaten bestimmten Werte nebeneinander stellt.

I. Gruppe.

Nummer der Torula	3	4	5	6	11	17	7	8
Abnahme in Gew. % nach 2 Monaten	0,65	0,58	0,79	0,37	1,27	0,69	0,39	0,62

26) a. a. O. S. 62.
27) a. a. O. S. 131.
28) a. a. O. S. 32.

II. Gruppe.

Nummer der Torula	1	9	10	2	15	16
Abnahme in Gewichtsprozent nach 2 Monaten.	1,08	1,59	0,98	1,53	2,08	2.10

Bei dieser Zusammenstellung ist der Wert für die Verdunstung in Abzug gebracht, welcher bei den Dachs'schen Versuchen infolge Verwendung von Erlenmeyerkolben bedeutend war (1,14 Gewichtsprozent Abnahme innerhalb 2 Monaten), während bei den vorliegenden Versuchen diese Verluste durch Verwendung von Pasteurkolben nahezu ganz vermieden wurden.

Also auch bezüglich der Verzehrung von Aethylalkohol ergeben sich deutliche und wertvolle Anhaltspunkte für die Unterscheidung der Arten.

Tabelle 8a.

Alkohol-Verzehrung.

Gewichts-Prozent.

Nummer d. Torula	7	8	1	9	10	2	15	16
0 Tage	4,84	4,84	4,84	4,84	4,84	4,84	4,84	4,84
3 ,, ...	4,68	4,67	4,60	4,50	4,58	4,50	4,60	4,63
6 ,, ...	4,63	4,58	4,45	4,40	4,46	4,47	4,57	4.62
9 ,, ...	4,59	4,50	4,20	4,35	4,26	4,45	4,55	4.60
12 ,, ...	4,56	4,45	4,10	4,26	4,15	4,40	4,53	4,59
15 ,, ...	4,55	4,39	4,05	4,21	4,11	4.38	4,50	4.56
20 ,, ...	4,53	4,32	4,00	4,19	4,10	4,34	4.27	4.29
25 ,, ...	4,50	4,29	3,92	4.15	4,09	4.31	3,90	3.92
30 ,, ...	4,46	4,24	3,90	4,11	4,08	4.22	3,63	3.64
40 ,, ...	4,46	4,24	3,85	3,90	4,06	4.02	3,41	3.42
50 ,, ...	4,45	4,23	3,80	3,60	4,00	3,65	3,20	3.01
60 ,, ...	4,45	4,22	3,76	3,25	3,91	3,31	2,76	2.74
80 ,, ...	4,44	4,21	3,68	3,04	3,80	3,04	2,64	2.58
110 ,, ...	4,43	4,20	3,62	2,73	3,62	2,55	2,32	2.37
150 ,, ...	4,43	4,19	3,57	2,60	3,32	2,38	2,00	2.19
190 ,, ...	4,42	4,18	3,50	2,40	3,10	2,19	1,80	2.00

Tabelle 8b.
Säurebildung.
ccm n/10 Natronlauge.

Nummer d. Torula	7	8	1	9	10	2	15	16
0 Tage	—	—	—	—	—	—	—	—
3 ,, ...	—	—	—	—	—	—	—	—
6 ,, ...	—	—	—	—	—	—	—	—
9 ,, ...	—	0,41	—	—	—	—	—	—
12 ,, ...	0,40	0,56	—	0,32	—	0,35	—	—
15 ,, ...	0,53	0,59	0,12	0,45	—	0,42	0,02	—
20 ,, ...	0,54	0,62	0,38	0,52	—	0,58	0,61	—
25 ,, ...	0,60	0,79	0,45	0,75	—	0,62	0,74	—
30 ,, ...	0,72	0,88	0,68	0,93	—	0,73	1,01	0,36
40 ,, ...	0,94	0,97	0,91	1,18	—	0,85	1,32	0,74
50 ,, ...	0,98	1,11	1,25	1,40	0,30	1,05	1,94	1,12
60 ,, ...	1,00	1,13	1,38	1,55	1,17	1,28	2,40	1,56
80 ,, ...	1,00	1,13	1,49	1,63	1,38	1,54	2,87	2,13
110 ,, ...	1,00	1,13	1,68	1,97	1,52	1,89	3,22	2,84
150 ,, ...	1,01	1,14	1,80	2,15	1,63	2,36	3,75	3,10
190 ,, ...	1,03	1,15	1,95	2,27	1,98	2,75	4,00	3,52

III. Verhalten gegen organische Säuren.

Das Verhalten der 8 Torula-Arten gegen organische Säuren ist physiologisch von Interesse, da solche in vielen natürlichen Nährböden vorkommen und gewisse Säuren als Stoffwechselprodukte bei den Torula-Arten auftreten.

Zudem haben die Untersuchungen an anderen Gruppen von Sproßpilzen ohne Sporenbildung (Leberle, Geiger) gezeigt, daß das Verhalten gegenüber organischen Säuren brauchbare Richtpunkte nicht nur für die Unterscheidung der Arten, sondern auch der Gattungen abgibt.

Im ersten Kapitel wurde bewiesen, daß die Zucker ein geeignetes Material für Säurebildung sind.

Im zweiten Kapitel wurde gezeigt, daß parallel mit der Alkoholverzehrung Säurebildung vor sich geht.

Die folgenden Versuche hatten den Zweck, festzustellen, welche von den verwendeten Säuren die vorliegenden Torula-Arten abzubauen vermögen und welche Säuremengen entwicklungshemmend bezw. abtötend wirken.

H. Will[29]) hat festgestellt, daß die Acidität von Bierwürze während der Entwicklung von Torula 1, 7, 9, 10 und 16 eine Zunahme und während der Entwicklung von Torula 2, 8 und 15 eine Abnahme erfährt. Eine regelmäßige Beziehung der raschen Hautbildung der Organismen auf der Würzeoberfläche zur Abnahme der Acidität hat sich nicht ergeben. Es ist nicht ausgeschlossen, daß Säuremehrung und Säureverzehrung nebeneinander hergehen und die jeweils in den Kulturen festgestellten Säuremengen die Resultante aus beiden Prozessen ist.

Die Untersuchung erstreckte sich auf folgende sieben organische Säuren: Ameisensäure, Essigsäure, Milchsäure, Bernsteinsäure, Äpfelsäure, Weinsäure und Zitronensäure.

Als Nährboden wurde die Peptonlösung verwendet und zwar wurde sie deswegen gewählt, weil sie sich als verhältnismäßig schlechter Nährboden erwiesen hatte und infolgedessen die Einwirkung der Torula-Arten auf die Säuren schärfer zum Ausdruck kommen muß.

1. Entwicklungshemmung und Abtötung durch die Säuren; Ermittelung des Grenzwertes.

Die Peptonlösung wurde in Freudenreichkölbchen in Mengen von je 10 ccm abgefüllt; nach Zusatz von 0,1, 0,2, 0,3 und 0,4 % usw. der zu prüfenden Säure sorgfältig sterilisiert und blieb einige Zeit zur Beobachtung der Reinheit stehen.

Durch Titration einiger Versuchskölbchen vor und nach dem Sterilisieren wurde festgestellt, daß die Säurekonzentration hierbei keine Veränderung erfahren hatte.

Später wurde jedes Kölbchen mit einer Platinöse der zu untersuchenden Torula-Art geimpft. Als Einsaatmaterial dienten Strichkulturen aus 10 prozentiger schräg erstarrter

29) II. Mitteilg. S. 699.

Würzegelatine, für deren Alter die Rücksicht auf möglichst kräftigen Zustand der Zelle maßgebend war.

Wie bei den übrigen Versuchen wurden Parallelkulturen und Kontrollkulturen ohne Säurezusatz geimpft und zur Beobachtung aufgestellt. Die Kulturen blieben drei Wochen im Thermostaten bei 25 ° C stehen.

In nachstehender Tabelle sind die Säuremengen in Prozenten angegeben, bei denen unter den gebotenen Verhältnissen noch eine Entwicklung der Organismen stattfand.

Nummer:	7	8	1	9	10	2	15	16
Ameisensäure:	1,3	1,3	1,7	1,6	1,6	1,6	1,9	1,6
Essigsäure:	0,5	0,5	0,6	0,5	0,5	0,5	0,6	0,5
Milchsäure:	1,4	1,4	2,8	2,6	2,6	2,6	2,9	2,7
Bernsteinsäure:	2,0	2,0	gesättigt					
Aepfelsäure:	1,9	1,9	4,8	4,5	4,5	4,5	5,4	5,0
Weinsäure:	0,8	0,8	1,5	1,4	1,4	1,4	2,2	1,5
Zitronensäure:	2,0	2,2	4,2	4,0	4,0	4,0	5,1	4,3

Die Tabelle zeigt, daß für die beiden der ersten Gruppe angehörigen Torula-Arten 7 und 8 die Werte sich innerhalb der von Dachs[30]) für die ebenfalls der ersten Gruppe angehörigen Arten 3 + 4, 5, 6, 11 und 17 gefundenen Zahlen bewegen. Zum Vergleich sei hier die Dachs'sche Tabelle angeführt.

Nummer:	3	4	5	6	11	17
Essigsäure:	0,45	0,45	0,50	0,50	0,50	0,50
Milchsäure:	1,4	1,4	2,8	1,2	1,4	1,4
Bernsteinsäure:	1,9	1,9	gesättigt	2,3	2,3	2,3
Aepfelsäure:	1,9	1,8	15,0	2,2	2,2	2,2
Weinsäure:	0,7	0,7	4,5	0,8	0,8	0,8
Zitronensäure:	1,9	1,8	9,0	2,1	2,0	2,0

Bei der ersten Gruppe ist Nr. 5, welche das stärkste Gärvermögen von der ganzen Gruppe zeigt, gegenüber den verwendeten organischen Säuren am widerstandsfähigsten, nicht dagegen gegenüber Alkohol, obwohl die Grenzwerte mit zu den höheren gehören.

30) a. a. O. S. 33 und IV. Mitteilg. Will & Dachs, S. 392.

Für die zur zweiten Gruppe der Torulaceen gehörenden Arten 1, 9, 10, 2, 15, 16, ergibt sich folgendes. Für die Arten 9, 10 und 2 sind die Werte für die betreffenden Säuren die gleichen, bei Torula 1 und 16 sind sie etwas höher, bei Torula 15 sind sie für alle Säuren zum größten Teil bedeutend höher als diejenigen für die übrigen Arten derselben Gruppe; Torula 15 ist also sowohl gegen Säuren, als auch gegen Alkohol, wie im vorigen Kapitel gezeigt, sehr widerstandsfähig.

Die Grenzwerte für die Entwicklungshemmung sind für die zweite Gruppe durchschnittlich höher, als für die erste Gruppe, bei welcher nur Nr. 5 ähnlich wie Torula 15 der zweiten Gruppe eine Ausnahme macht. Die Grenzwerte für die Entwicklungshemmung durch die geprüften Säuren geben also gute Unterscheidungsmerkmale ab.

Ordnet man die Säuren nach den Grenzzahlen, so ergibt sich für die der ersten Gruppe der Torulaceen angehörenden Arten 7 und 8 folgende Reihe: Essigsäure, Weinsäure, Ameisensäure, Milchsäure, Äpfelsäure, Zitronensäure und Bernsteinsäure. Die Reihenfolge ist also im wesentlichen die gleiche, wie für die von Dachs untersuchten Arten der ersten Gruppe. Für die der zweiten Gruppe der Torulaceen angehörenden Arten ist die Reihenfolge dieselbe wie für die der ersten Gruppe, nur steht hier die Zitronensäure vor der Äpfelsäure; eine Ausnahme macht Torula 15: hier steht die Ameisensäure vor der Weinsäure, im übrigen stimmt die Reihenfolge mit derjenigen der zweiten Gruppe überein.

Für Bernsteinsäure konnte der Grenzwert nicht genauer festgestellt werden, da alle Organismen der zweiten Gruppe auch in der gesättigten Lösung der Säure (5—6 % nach Beilstein) noch sehr gut wuchsen.

Der Versuch wurde mit Mengen von je 100 ccm der Nährlösung und solchen Säuremengen, welche nahe den Grenzwerten liegen, wiederholt, wobei anstatt der Freudenreichkölbchen Pasteurkolben verwendet wurden. Die Ergebnisse waren dieselben wie bei den Versuchen mit kleinen Mengen der Nährlösung.

Ein Zusammenhang zwischen chemischer Konstitution der Säure und ihrer Abbaufähigkeit durch die untersuchten Torula-Arten ist nicht zu erkennen.

Analoge Versuche hat auch Leberle[31]) mit den von ihm untersuchten Mycodermaformen angestellt; allerdings hat er dabei Bierwürze angewendet, die ein günstigerer Nährboden ist als Peptonlösung. Die Zahlen für die Grenzwerte lassen sich also nicht direkt vergleichen. Wenn demnach auch teilweise die höheren Zahlen auf Rechnung der Bierwürze zu setzen sind, so darf man doch wohl annehmen, daß die Grenzwerte überhaupt höher liegen; damit ist aber ein wertvolles Unterscheidungsmerkmal gewonnen.

	Mycodermaformen			
	a	b	c	d
Essigsäure:	1,0	1,0	1,0	1,0
Milchsäure:	3,5	2,5	2,5	4,0
Bernsteinsäure:	3,0	2,5	3,0	2,5
Aepfelsäure:	12,0	18,0	15,0	17,0
Weinsäure:	3,0	3,0	2,0	3,5
Zitronensäure:	7,0	8,0	7,0	8,5

Die Tabelle enthält die von Leberle angegebenen Grenzwerte für die von ihm untersuchten Mycodermaformen in Bierwürze.

Die von Geiger[32]) an vier Pseudomonilia-Arten angestellten Versuche lassen nur teilweise einen Vergleich mit den Torulaceen und Mycodermen zu insofern, als bei jenen die Beobachtung nur auf eine kürzere Zeit ausgedehnt war und außerdem der Säurezusatz nur bis 2,0 % ging. Die Arten Pseudomonilia rubescens und cartilaginosa sind gegen die verwendeten Säuren überhaupt sehr empfindlich; die Grenzwerte liegen für alle Säuren zwischen etwa 0,25 und 0,5 %. Bei den Arten Pseudomonilia albomarginata und mesenterica liegt sie nur für Essigsäure innerhalb der angegebenen Grenzen.

31) a. a. O. Dissertation S. 68 und Zentralblatt Bakt. II, 1910 28 S. 28.

32) a. a. O. S. 128.

Zur Feststellung der Säurewerte, welche unter den gegebenen Bedingungen tötend wirken, wurde in folgender Weise verfahren.

Nachdem nach einmonatlicher Versuchsdauer die Grenzwerte für die Entwicklungshemmung festgestellt waren, wurde von den Versuchskölbchen mit noch höherer Konzentration die Flüssigkeit vorsichtig und möglichst vollständig abgegossen und durch sterile Bierwürze, welche nach allen früheren Erfahrungen eine gute Nährlösung für die vorliegenden Torula-Arten ist, ersetzt. Auf diese Weise gelang es, diejenige Säurekonzentration zu ermitteln, bei welcher nach einem Monat alle Zellen tot waren. Das Ergebnis ist in der folgenden Tabelle zusammengestellt.:

Nummer:	7	8	1	9	10	2	15	16
Ameisensäure . . .	2,0	2,3	2,3	2,1	2,1	2,1	2,9	2,1
Essigsäure	0,65	0,65	0,90	0,65	0,65	0,65	1,0	0,65
Milchsäure	2,6	2,8	2,8	4,0	6,0	3,4	7,5	4,0
Bernsteinsäure . .	2,8	2,8	—	—	—	—	—	—
Äpfelsäure	2,4	2,5	7,5	7,5	6,5	5,5	7,5	6.0
Weinsäure	1,2	1,2	2,5	1,4	2,0	2.2	2,9	2.2
Zitronensäure . .	2,4	2,6	6,8	6,5	6,2	6,0	6,3	3.3

Die Zahlen lassen für die der ersten Gruppe angehörenden Torula-Arten 7 und 8 innerhalb der betreffenden Säure eine einfache Beziehung zwischen den Zahlen für Säurehemmung und denjenigen Zahlen erkennen, bei welchen alle Zellen ohne Ausnahme getötet waren. Bei Essigsäure, Weinsäure, Zitronensäure und Bernsteinsäure sind für Torula 7 und 8 die Werte um 0,15 bezw. 0,4 bezw. 0,4 bezw. 0,8 % der betreffenden Säure höher. Bei den anderen Säuren und bei den zur zweiten Gruppe gehörenden Torula-Arten 1, 9, 2, 15 und 16 sind die Beziehungen nicht mehr so einfache. Diese Unregelmäßigkeit dürfte sich vor allem daraus erklären, daß eine einzige noch lebende besonders widerstandsfähige Zelle (Dauerform) genügt, um bei Zugabe einer guten Nährlösung (Würze) den Ausgangspunkt einer neuen Vegetation zu bilden. Es wird darauf ankommen, ob Gelegenheit gegeben war, Dauerformen zu bilden.

Leider wurde der Versuch, diejenige Konzentration zu ermitteln, bei welcher alle Zellen getötet wurden, weder von Dachs für die von ihm untersuchten Torula-Arten, noch von Leberle für die von ihm untersuchten Mycodermaarten, noch von Geiger für die Pseudomonilia-Arten gemacht, so daß Vergleichszahlen fehlen.

2. Säureverzehrung.

Um zu ermitteln, ob und in welchem Grade die betreffenden Säuren verzehrt werden, wenn die Konzentration kleiner ist, als die entwicklungshemmende, wurde folgender Versuch angestellt.

Erlenmeyerkolben wurden mit je 200 ccm Peptonlösung, welche 0,5 der betreffenden Säure enthielt, gefüllt, zweimal, am ersten und am dritten Tage je 15 Minuten im Dampftopf sterilisiert und nach einer Beobachtungszeit von 14 Tagen mit je einer Platinöse der betreffenden Torulaart geimpft. Das Impfmaterial war aus dem gleichen Grund, wie früher angegeben, auf Würzegelatine herangezogen und verschieden alt. Bei Essigsäure wurde eine geringere Konzentration gewählt, entsprechend dem sehr niedrigen Wert, welcher bei dem Versuch über die Entwicklungshemmung ermittelt worden war. Vor dem Versuch war die Konzentration durch Titration mittels n/10 Natronlauge und Phenolphtalein als Indikator ermittelt worden.

Die Wachstumserscheinungen wurden periodisch kontrolliert und die Beobachtungen in der Tabelle Nr. 9 zusammengefaßt. Die Dauer des Versuchs betrug sechs Monate.

Aus der Tabelle über die Wachstumserscheinungen sei folgendes besonders hervorgehoben. (Vergl. S. 138.)

Torula 7. Das Wachstum ist ein geringes, Hautbildung war nicht zustande gekommen. Nach 8 Tagen konnte eine Entwicklung äußerlich überhaupt noch nicht wahrgenommen werden. Nach 14 Tagen wurde ein Wachstum nur insofern beobachtet, als sich der Absatz etwas vermehrte und wenig an der Gefäßwand emporwuchs. Kristallbildung

konnte nicht beobachtet werden, geringe Farbstoffbildung nur in den Kulturen mit Weinsäurezusatz.

Torula 8. Die Entwicklung ist anfangs nicht besser wie bei Torula 7; erst nach 8 Tagen war eine Entwicklung äußerlich zu erkennen. Sehr spät, nachdem ein Teil der Säure assimiliert ist, kommt es mit Ausnahme der Kulturen mit Essigsäurezusatz, zur Bildung von Ring, Rand und Hautinseln. In keinem Falle kam jedoch eine geschlossene Hautbildung zustande. Die langsame Entwicklung von Torula 8 ist besonders zu beachten in Hinsicht auf die teilweise sehr geringe Assimilierung der Säuren während der ersten vier Wochen. Kristallbildung wurde nur bei den Kulturen mit Weinsäurezusatz beobachtet. Mit Ausnahme der Kulturen mit einem Zusatz von Ameisensäure, Essigsäure und Milchsäure erscheint in allen Kulturen Absatz und Flüssigkeit stark dunkelbraun gefärbt. Die beiden Torulaarten 7 und 8 geben unwiderleglich zu verstehen, daß bei derartigen Assimilationsversuchen jedenfalls längere Zeit hindurch die Beobachtungen fortgesetzt werden müssen, wenn Entscheidung darüber getroffen werden soll, ob Assimilierung stattfindet oder nicht.

Torula 1. Die Entwicklung ist eine schnellere wie bei den zur ersten Gruppe gehörenden Torulaarten 7 und 8. Ein Oberflächenwachstum beginnt teilweise schon nach 4 Tagen (Weinsäure) und ist anfangs vorherrschend; infolgedessen sind auch die Absätze vorerst gering bis mäßig. Es kommt ziemlich bald zur Bildung einer geschlossenen Haut, von welcher sich bei geringster Erschütterung große Fetzen ablösen und zu Boden sinken, die aber bald wieder durch neue Hautinseln ersetzt werden. Infolge dieses sich ständig wiederholenden Vorgangs erscheint die Haut bald marmoriert, da sie aus Hautteilen verschiedenen Alters und verschiedener Dicke zusammengesetzt ist. Der Bodensatz erscheint grobflockig, da er zum größten Teil aus niedergesunkenen Hautteilen besteht. Später, wenn die Nährlösung größtenteils erschöpft ist, wird auch das Oberflächenwachstum

ein mäßiges. Farbstoffbildung konnte in keiner, Kristallbildung in allen Kulturen beobachtet werden.

T o r u l a 9. Oberflächenwachstum (Ring und einzelne Hautinseln) konnte zwar schon nach vier Tagen beobachtet werden, blieb aber im weiteren Verlauf doch nur schwach. Zur Bildung einer geschlossenen Haut kam es nur in einzelnen Fällen, die Absätze sind je nach der Säure mäßig bis stark, sie wachsen aber ziemlich energisch an der Gefäßwand empor, an welcher sich auch kleine Kolonien bilden. Farbstoff- und Kristallbildung konnten nur in geringem Maße und nicht bei allen Kulturen beobachtet werden.

T o r u l a 10. Die Entwicklung geht anfangs hauptsächlich innerhalb der Flüssigkeit vor sich und wird besonders deutlich an der Gefäßwand beobachtet. Oberflächenwachstum tritt zwar ziemlich bald auf, es bleibt aber schwach, zur Bildung einer geschlossenen Haut kommt es erst nach einigen Monaten und nicht bei allen Kulturen. Ring- und Randbildung mäßig, feinflockige, gleichmäßig gelagerte, meist mäßige Absätze. Keine Farbstoff- und Kristallbildung.

T o r u l a 2. Oberflächenwachstum beginnt sehr bald, Haut in einigen Kulturen schon nach vier Tagen geschlossen. Das Wachstum ist in allen Kulturen mit Säurezusatz besser, wie beim blinden Versuch. Teile der Haut fallen bald zu Boden, infolgedessen sind die Absätze grobflockig, ungleichmäßig abgelagert und ziemlich stark. Ring und Rand schwach, keine Farbstoff- und Kristallbildung.

T o r u l a 15. Sehr rasches Oberflächenwachstum, alle Kulturen mit Säurezusatz entwickeln sich viel besser, als diejenigen ohne einen solchen. Die Haut wird später gekröseartig gefaltet und niedersinkende Teile werden rasch ersetzt. Absätze anfangs mäßig feinflockig, später mäßig bis stark, grobflockig und ungleichmäßig abgelagert, jedoch fast ausschließlich aus Hautteilen bestehend. Geringe Gelbfärbung der Haut in einigen Kulturen. Keine Kristallbildung.

Torula 16. Vorwiegend Oberflächenwachstum. Hautinseln fallen leicht zu Boden, werden aber bald durch neugebildete ersetzt, ziemlich rasche und starke Randbildung. Absätze sehr verschieden stark, je nach der Menge der abgefallenen Hautinseln. Schwache Farbstoffbildung trat nur in den Kulturen mit einem Zusatz von Milchsäure, Bernsteinsäure und Äpfelsäure auf.

Der Grad der Assimilation der Säuren wurde nach einem Zeitraum von 1 bezw. 6 Monaten durch Titration mittels n/10 Natronlauge und Phenolphtalein als Indikator festgestellt. Vorher waren die Kulturen mikroskopisch auf Reinheit geprüft und der Inhalt der Kolben wieder quantitativ auf 200 ccm aufgefüllt worden. Zur Titration wurden je 10 ccm abpipettiert. Die Untersuchung einiger aufgestellter Kontrollversuche zeigte, daß zwar Flüssigkeit in verschiedenem Grad während der sechsmonatlichen Versuchsdauer verdampft war, nach dem Auffüllen auf 200 ccm erwies sich aber, daß die ursprüngliche Konzentration nicht verändert war. In der folgenden Tabelle sind die Ergebnisse der Titration angegeben, die Zahlen bedeuten diejenigen Mengen n/10 Natronlauge, die vor und nach dem Versuch von 10 ccm der Nährflüssigkeit verbraucht wurden. 10 ccm der Nährlösung allein verbrauchen 5,35 ccm n/10 Natronlauge.

Tabelle 10.

Abnahme des Säuregehaltes (ccm n/10 Na O H).

Nummer:	7	8	1	9	10	2	15	16
Ameisensäure:								
Zu Beginn des Versuchs:	8,96	8,96	8,96	8,96	8,96	8,96	8,96	8,96
Nach 1 Monat:	8,41	8,12	8,25	7,99	5,56	7,05	8,35	7,25
Nach 6 Monaten:	7,22	7,81	3,23	3,50	6,39	7,51	7,09	1,25
Essigsäure:								
Zu Beginn des Versuchs:	10,24	10,24	10,24	10,24	10,24	10,24	10,24	10,24
Nach 1 Monat:	9,24	9,28	8,00	9,20	8,52	8,32	6,05	5,80
Nach 6 Monaten:	4,14	8,09	3,51	3,08	8,81	8,72	5,74	1,82

Nummer:	7	8	1	9	10	2	15	16
Milchsäure:								
Zu Beginn des Versuchs:	12,03	12,03	12,03	12,03	12,03	12,03	12,03	12,03
Nach 1 Monat:	11,81	12,00	11,12	10,80	10,25	6,75	7,00	8,72
Nach 6 Monaten:	8,07	9,53	7,72	5,70	6,70	1,91	5,82	2,54
Bernsteinsäure:								
Zu Beginn des Versuchs:	15,23	15,23	15,23	15,23	15,23	15,23	15,23	15,23
Nach 1 Monat:	14,99	14,88	12,98	13,44	12,70	10,50	12,30	13,03
Nach 6 Mten.:	11,21	8,33	1,90	1,52	1,84	1,50	3,01	1,87
Aepfelsäure:								
Zu Beginn des Versuchs:	13,12	13,12	13,12	13,12	13,12	13,12	13,12	13,12
Nach 1 Monat:	12,00	12,59	11,04	12,25	10,00	8,85	11,49	11,87
Nach 6 Mten.:	7,90	6,94	1,73	1,10	1,42	1,13	3,95	1,02
Weinsäure:								
Zu Beginn des Versuchs:	15,36	15,36	15,36	15,36	15,36	15,36	15,36	15,36
Nach 1 Monat:	13,92	12,40	13,28	12,04	11,35	11,05	12,65	12,07
Nach 6 Mten.:	11,39	7,08	9,81	9,73	8,64	7,62	8,20	7,41
Zitronensäure:								
Zu Beginn des Versuchs:	15,04	15,04	15,04	15,04	15,04	15,04	15,04	15,04
Nach 1 Monat:	14,71	13,02	9,55	11,54	10,55	11,30	12,21	14,00
Nach 6 Mten.:	8,97	8,09	4,14	3,54	1,90	8,13	8,19	2,15

In der Tabelle Nr. 11 ist die Abnahme auf Prozente umgerechnet.

Aus den Tabellen geht, wenn zunächst die Ergebnisse nach einem Monat ins Auge gefaßt werden, folgendes hervor. Sämtliche angewandten Säuren werden durch die vorliegenden Organismen mit verschiedener Energie assimiliert und zwar durchschnittlich ziemlich energisch; die geringsten Mengen hat Torula 8 assimiliert. Die der ersten Gruppe angehörenden Torula-Formen 7 und 8 haben im allgemeinen weniger Säure als die der zweiten Gruppe verzehrt.

Tabelle 11.

Abnahme des Säuregehalts in Prozent.

Nummer:	7	8	1	9	10	2	15	16
Ameisensäure:								
Nach 1 Monat:	6,13	9,37	7,92	10,82	37,95	21,31	6,81	19,82
Nach 6 Monaten:	19,44	12,83	63,95	60,94	28,68	16,18	20,87	86,05
Essigsäure:								
Nach 1 Monat:	8,01	9,38	21,87	10,15	16,79	18,75	40,92	43,36
Nach 6 Monaten:	59,57	21,97	65,72	69,92	13,96	14,84	43,94	82,22
Milchsäure:								
Nach 1 Monat:	18,28	0,25	7,56	10,14	14,79	43,88	41,81	27,51
Nach 6 Monaten:	32,91	20,78	35,82	52,62	44,31	84,12	51,62	77,88
Bernsteinsäure:								
Nach 1 Monat:	1,57	2,29	14,77	11,76	16,61	31,06	19,23	14,44
Nach 6 Monaten:	26,39	45,31	87,52	90,02	87,92	90,15	80,24	87,72
Aepfelsäure:								
Nach 1 Monat:	8,53	4,04	15,85	6,63	23,78	32,47	12,42	9,53
Nach 6 Monaten:	39,78	47,10	86,81	91,61	89,17	91,39	69,89	92.23
Weinsäure:								
Nach 1 Monat:	9,37	19,26	13,54	21,61	26,11	28,06	17,64	41,42
Nach 6 Monaten:	26,11	53,91	36,13	36,65	43,75	50,39	46,61	51,75
Zitronensäure:								
Nach 1 Monat:	2,19	13,43	36,50	23,93	29,85	24,86	18,82	6.91
Nach 6 Monaten:	40,35	46,21	73,14	77,12	87,36	45,94	47,73	85.70

Bei den vorliegenden acht Formen ist die Assimilationsfähigkeit teils schwächer, teils stärker als bei den von Dachs[33]) untersuchten Torulaformen der ersten Gruppe und bedeutend stärker als bei den von Leberle[34]) untersuchten Mycodermaformen. Die durchgreifenden Unterschiede, die sich bisher zwischen den Arten der ersten und zweiten Gruppe ergeben haben, bestehen also hinsichtlich der Säureverzehrung nicht. Die Assimilierung der verschiedenen Säuren durch die Torula-Arten ist also eine verschiedene. Diese

33) a. a. O. S. 48 und IV. Mitteilg. Will & Dachs S. 461.

34) Dissertation a. a. O. S. 65 und Zentralblatt Bakt. II 1910 28 S. 27.

Verschiedenheit hinsichtlich der Assimilierung ist jedenfalls bedingt durch die verschieden ausgeprägte Fähigkeit der einzelnen Organismen, Säuren zu assimilieren, also durch eine Art-Eigentümlichkeit. Ein zweiter, sehr wesentlicher Faktor ist aber auch die Schnelligkeit, mit welcher sich die Organismen vermehren. Die geringe Menge Milchsäure, welche von Torula 8 innerhalb eines Monats assimiliert wurde, ist zweifellos mit auf die langsame Vermehrung (vgl. Tabelle) zurückzuführen, zum Teil mögen hier aber auch Zufälligkeiten mitgespielt haben.

Ordnet man die Säuren nach dem Grad ihrer Assimilierung in absteigender Reihe, so ergibt sich für jede Form eine andere Reihe.

Torula 7. Milchsäure wird am besten, weniger gut Wein-, Äpfel-, Essig-, Ameisen-, Zitronen- und am geringsten Bernsteinsäure assimiliert.

Torula 1. Zitronen-, Essig-, Äpfel-, Bernstein-, Wein-, Ameisen-, Milchsäure.

Torula 8. Wein-, Zitronen-, Essig-, Ameisen-, Äpfel-, Bernstein-, Milchsäure.

Torula 9. Zitronen-, Wein-, Bernstein-, Ameisen-, Essig-, Milch- und Äpfelsäure.

Torula 10. Ameisen-, Zitronen-, Wein-, Äpfel-, Essig-, Bernstein-, Milchsäure.

Torula 2. Milch-, Äpfel-, Bernstein-, Wein-, Zitronen-, Ameisen-, Essigsäure.

Torula 15. Milch-, Essig-, Bernstein-, Zitronen-, Wein-, Äpfel-, Ameisensäure.

Torula 16. Essig-, Wein-, Milch-, Ameisen-, Bernstein-, Äpfel- und Zitronensäure.

Diese Reihen beziehen sich auf die Ergebnisse der Untersuchung nach einem Monat. Da es von Interesse erschien, den Grad der Säureabnahme der Kulturen auch noch in einem späteren Stadium festzustellen, so blieb ein Teil der Versuchskolben weitere 5 Monate unter denselben Bedingungen wie früher stehen. Bei der Titration zeigte sich:

1. daß die Reihenfolge der Säuren bei den einzelnen Formen eine andere geworden war,
2. daß in einigen Fällen die Säure nicht nur nicht abgenommen, sondern sogar zugenommen hatte. Für die Erklärung dieser Erscheinung kommt außer Zufälligkeiten, die dadurch gegeben waren, daß zur Titration nicht immer die gleichen Kulturen verwendet wurden und Verschiedenheiten in der Entwicklung der einzelnen Kulturen vorhanden gewesen sein können (vgl. hierzu die Tabellen über die Beobachtung der Wachstumserscheinungen an den Kulturen, aus welchen hervorgeht, daß die Entwicklung von Parallelkulturen verschieden sein kann, z. B. Nr. 2 Milchsäure) auch noch die verschiedene Entwicklungsschnelligkeit der einzelnen Arten in Betracht. Die Entwicklung ist bei der einen Art sehr rasch, die größte Menge der Säure wird in den ersten Wochen verzehrt, später tritt Stillstand ein. Bei anderen Arten ist die Entwicklung anfangs sehr langsam (Nr. 7 und 8), die Assimilierung erfolgt langsam und stetig. Ferner ist zu berücksichtigen, daß die untersuchten Torulaformen nicht nur Säureverzehrer, sondern auch Säurevermehrer sind, wie dies Will[35]) an der Hand von Versuchen mit Torula-Arten unter Verwendung von Sauerkrautwasser und gehopfter Bierwürze nachweisen konnte.

Die in den Weinsäurekulturen ausgeschiedenen gelben rhombischen Kristalle waren nach der chemischen Untersuchung Kristalle von Calciumtartrat, die in den übrigen Säurekulturen gebildeten Kristalle waren teils Magnesiumammoniumphosphat (rhombisch), teils Calciumphosphat (hexa-gonal).

Das Auftreten von Farbstoffen in den Säurekulturen wird im Zusammenhang mit einer zu diesem Zweck besonders angestellten Versuchsreihe erörtert werden.

---

35) III. Mitteilg. S. 700.

Bemerkenswert ist noch, daß die Einwirkung der Organismen im Gegensatz zu einem Teil der von Dachs untersuchten Arten der ersten Gruppe, welche einander näher stehen, als die Formen Nr. 7 und 8, während der Versuchsdauer nicht so weit ging, daß die Gesamtmenge der Säure verzehrt wurde und die Nährflüssigkeit alkalisch reagierte. Damit ist wieder ein für die Unterscheidung der Arten bezw. Gruppen beachtenswerter Richtpunkt gegeben.

IV. Wachstumsfähigkeit auf möglichst stickstoffreiem Nährboden.

Die Tatsache, daß Ammoniak, salpetrige Säure und Salpetersäure in Salzform aus der Atmosphäre der Erde zugeführt werden, war schon lange bekannt. Die Menge jener Salze ist aber in keinerWeise ausreichend, die Mengen an Stickstoff in der Erde zu ersetzen, welche durch die höhere Pflanzenwelt und durch die zersetzende Wirkung von Mikro-Organismen dem Boden entzogen werden.

Vor den Entdeckungen Hellriegels[36]) und Winogradsky's[37]) sowie anderer, daß es Spaltpilze gibt, welche den freien Stickstoff der Luft zu assimilieren vermögen, war die Ansicht allgemein verbreitet, daß die höhere Pflanzenwelt ihren Stickstoffbedarf nur direkt aus der Erde und zwar aus anorganischen Stoffen beziehen kann.

Der unermeßlich große Gehalt der Luft an elementarem Stickstoff schien im Pflanzenleben keine Rolle zu spielen. Es war die Ansicht verbreitet, daß die Erde durch die pflanzliche Vegetation immer ärmer an stickstoffhaltigen Substanzen wird und daß dieser ständigen Abnahme nur durch gründliche Düngung abgeholfen werden kann.

Kühn[38]) war einer der ersten, der annahm, daß die der Erde auf die eine oder die andere Weise entzogene Stickstoff-

---

36) Hellriegel, Über die Stickstoffnahrung der Gramineen und Leguminosen. 1888.

37) Winogradsky, Compt. rend. Akad. Paris 1893 116 S. 1385.

38) Kühn, Frühlings Landw. Zeitung. 1901.

menge jener durch Bodenbakterien wieder teilweise zugeführt werde, indem sie freien, atmosphärischen Stickstoff zu assimilieren vermögen.

Unter „Oligonitrophilen" versteht B e y e r i n c k[39]) diejenigen Mikroben, welche bei freier Konkurrenz mit der übrigen Mikrobenwelt sich in Nährmedien ohne absichtlich zugefügte Stickstoffverbindungen entwickeln, aber auch ohne daß Fürsorge getroffen wird, die letzten Spuren dieser Verbindungen zu entfernen. Sie haben das Vermögen, den freien, atmosphärischen Stickstoff zu binden und zu ihrer Ernährung zu verwenden.

Z i k e s[40]) veröffentlichte im Jahre 1909 die interessante Beobachtung, daß eine Torula-Art, also ein Sproßpilz, welche er von Lorbeerblättern isolierte, ebenfalls die Fähigkeit besitzt, den Luftstickstoff in beträchtlicher Weise zu binden. Es handelt sich offenbar um eine der ersten Gruppe der Torulaceen angehörende Art, welche er als Torula Wiesneri bezeichnet.

P. L i n d n e r[41]) sprach sich auf der Oktobertagung der V. L. B. 1910 nach seinen bei Assimilationsversuchen gemachten Beobachtungen dahin aus, daß Blastoderma salmonicolor F i s c h e r und B r e b e c k, eine eigenartige, den Sproßpilzen in mancher Beziehung nahestehende Pilzform, die sich außerdem durch die Erzeugung eines roten Farbstoffes auszeichnet, wahrscheinlich ebenfalls freien Stickstoff assimiliert. Damit würde also der Kreis der Stickstoffsammler erweitert werden. Vielleicht ist die Eigenschaft, freien Stickstoff zu binden, bei den Sproßpilzen, überhaupt bei den niederen Pilzen weiter verbreitet. Die Versuche mit luftliebenden Hefen, Mycoderma und anderen Sproßpilzen, welche Z i k e s kurz mitteilt, lassen darauf schließen.

---

39) Beyerink, Zentralblatt Bakt. II 1901 7 S. 562.

40) Z i c k e s, H. Über eine den Luftstickstoff assimilierende Hefe: Torula Wiesneri. Sitzungsbericht der kaiserl. Akademie der Wissenschaften in Wien. Mathem.-naturwiss. Klasse Bd. 118. Abt. I. Juli 1909. Sonder-Abdruck.

41) L i n d n e r, P. Nach Berichten in der Tageszeitung für Brauerei 1910 8 S. 1316.

Infolge der Beobachtungen von Zikes sollten auch mit den vorliegenden Organismen einige Versuche in jener Richtung angestellt werden und zwar zunächst in der Weise, daß geprüft wurde, ob sie fähig sind, sich auf möglichst stickstoffreien, festen Nährböden und in stickstoffreien Nährlösungen zu vermehren.

Eine Ausschaltung der in der Luft vorhandenen Stickstoffverbindungen war, da es sich nur um orientierende Versuche handelte und bei der großen Anzahl von Kulturen zunächst ausgeschlossen.

Verwendet wurden folgende Nährböden:

Ia flüssiger Nährboden ohne Stickstoffzusatz

0,5 g KH_2PO_4
0,2 g $Mg\ S\ 0_4$
2,0 g Saccharose
100,0 g destilliertes Wasser.

Ib Fester Nährboden ohne Stickstoffzusatz.

Auf je 100 ccm der Nährlösung Ia wurden 2 g Agar-Agar zugesetzt.

Zur Kontrolle der äußeren Wachstumserscheinungen auf den stickstoffreien Nährböden schien es geboten, gleichzeitig Kulturen auf Nährböden mit Stickstoffzusatz anzulegen:

IIa: Flüssiger Nährboden mit Stickstoffzusatz.

Wie Ia, mit Zusatz von 2 % Pepton Witte.

IIb: Fester Nährboden mit Stickstoffzusatz

Wie Ib mit Zusatz von 2 % Pepton Witte.

Das Agar-Agar war durch wiederholtes ausgiebiges Behandeln mit Wasser ausgewaschen worden.

Die Nährlösungen bezw. festen Nährböden wurden mittels Pipette quantitativ in Mengen von je 10 bezw. 20 ccm in Freudenreich- bezw. Erlenmeyerkolben abgefüllt.

Die Versuchsgefäße wurden am ersten und dritten Tage je 15 Minuten im Dampftopf sterilisiert und blieben dann zur Beobachtung einige Zeit stehen. Als Einsaatmaterial dienten Strichkulturen verschiedenen Alters auf schräg erstarrter Würze-Gelatine. Von jenen wurde je eine Platinöse

des Belags in 20 ccm der Nährlösung Ia gut verteilt; die Freudenreichkölbchen erhielten je 3 Tropfen der Mischung.

In den Erlenmeyerkolben wurden durch Auftragen eines Tropfens des Impfmaterials mittels steriler Capillare Riesenkolonien angelegt.

Torula 17 und 11 wurden in den Versuch mit einbezogen, um auch von dem Wachstum einiger Organismen der ersten Gruppe auf stickstoffreien Nährböden ein Bild zu bekommen.

Die Kulturen erhielten ihren Platz im direkten Licht auf einem Schrank des Laboratoriums bei einer durchschnittlichen Temperatur von 20 Grad C. Durch das Auswaschen war nur ein Teil des im Agar-Agar enthaltenen Stickstoffes entfernt worden, so daß der in 20 ccm des Saccharose-Agar enthaltene Stickstoff 5,664 mg (Mittelwert aus zwei Bestimmungen) betrug; er wurde nach der Methode von K j e l d a h l bestimmt.

Der Versuch dauerte 4 Monate. Beobachtungen über äußere Wachstumserscheinungen wurden nach 45 Tagen und nach 4 Monaten gemacht. Im folgenden sind die Beobachtungen über das makro- sowie mikroskopische Bild, das die Kulturen in der Nährlösung Ia nach 45 Tagen boten, zusammengefaßt. Das Wachstum war bei allen Organismen verhältnismäßig gut. Farbstoffbildung wurde nicht beobachtet.

T o r u l a 7: Schwache matte Haut, Flüssigkeit in der einen Kultur klar, in der anderen Kultur durch zu Boden sinkende Hautteile schwacher Schleier, Bodensatz weiß, gleichmäßig den Boden bedeckend, feinmehlig.

M i k r o s k o p i s c h e U n t e r s u c h u n g: Der fadenziehende Absatz besteht aus kugelförmigen bis ellipsoidischen typischen Torulazellen, keine gestreckten Zellformen, Größe der Zellen 2—5 μ, vorherrschend kleinere, einzelne Riesenzellen bis zu 8 μ. Zellhaut in der Regel deutlich sichtbar. Vom Inhalt der Zellen tritt zunächst in der Regel ein stark lichtbrechendes, meist großes Körperchen hervor. Vom übrigen Inhalt ist kaum etwas zu sehen. Bei der Behandlung mit Jod zeigt es sich aber, daß in den meisten Zellen

eine sehr große Vacuole und ein sehr schwacher Wandbelag, der sich mit Jod gelb färbt, vorhanden ist. Häufig in der Vacuole intensive Glykogenreaktion; das stark lichtbrechende Körperchen reagiert auf Jod deutlich mit gelber Farbe, durch Osmiumsäure wird es intensiv schwarzbraun gefärbt.

T o r u l a 8: Schwache Haut wie ein Schleier, der sich etwa 5 mm vom Flüssigkeitsrand an der Gefäßwand hinaufzieht. Flüssigkeit klar, Absatz weiß, gleichmäßig.

M i k r o s k o p i s c h e U n t e r s u c h u n g: Im mäßigen Absatz vorherrschend ellipsoidische Zellen bis zu 8 μ durchschnittlich Längsdurchmesser. Zuspitzung ist deutlich ausgeprägt. Einzelne wurstförmige Zellen 9 : 5μ, vereinzelt abnorme Zellen. Die meisten Zellen anscheinend lebend, reich an Glykogen, Inhalt stark körnig. Die Zellen des Absatzes sind durchschnittlich größer und deren Inhalt stärker lichtbrechend als bei den Hautzellen. Die Granula werden mit Osmiumsäure sehr stark schwarzbraun gefärbt.

T o r u l a 1. Fast geschlossene Haut, beginnende Randbildung, Absatz mäßig, nicht gleichmäßig wie bei Torula 7 und 8, es sind vielmehr einzelne, geschlossene größere Kolonien eingestreut. Oberfläche des Absatzes locker.

M i k r o s k o p i s c h e U n t e r s u c h u n g: Haut besteht aus sehr gleichmäßigen, durchschnittlich 3 μ großen, ellipsoidischen bis spitzeiförmigen Zellen mit einem bis zwei größeren, stark lichtbrechenden Körperchen, die so gleichmäßig in Form und Größe sind, daß man öfters Sporen vor sich zu haben glauben möchte. Sehr wenige gestreckt-ovale Zellen, keine Riesenzellen. Nach der Reaktion mit Jod muß noch ein sehr dünner Wandbelag von Plasma vorhanden sein. Die stark lichtbrechenden Körperchen färben sich mit Jod gelb, mit Osmiumsäure schwarzbraun. Im Absatz dürften nur mehr wenig lebende Zellen vorhanden sein. Vorherrschend sind langgestreckte Zellen, die aber meist so dünn wie Bakterienfäden sind. Häufig abnorm gewachsene Zellen, ein freudiges Wachstum liegt hier sicher nicht vor. In langgestreckten dickeren Zellen sehr viel Glykogen.

Torula 9. Keine Haut, kein Ring und Rand, Absatz weiß, voluminös, sehr locker, flaumig.

Mikroskopische Untersuchung: Durchschnittlich 8 μ große kugelförmige bis ellipsoidische, starkwandige Zellen, die ein kleines stark lichtbrechendes Körperchen enthalten, im übrigen aber wie leer erscheinen. Außerdem große Sproßverbände sehr langgestreckter und sehr dünner Zellen, die ihren Ursprung auf die kugelförmigen zurückführen. Haut der langgestreckten Zellen zarter. Häufig abnorme Zellen. In den kugelförmigen wie leer aussehenden Zellen ist noch ein sehr dünner Wandbelag, in welchem das Ölkörperchen eingelagert ist, vorhanden. Zuweilen in der großen Vacuole noch schwache Glykogenreaktion.

Torula 10. Keine Haut, keine Ring- oder Randbildung, Absatz weiß, mäßig, gleichmäßig wie bei Torula I.

Mikroskopische Untersuchung: Zellformen sehr verschieden, kugelförmig, ellipsoidisch, langgestreckt. Größe sehr verschieden, meist sehr klein, 2—3 μ. Zellwand sehr zart. In einzelnen Zellen noch intensive Glykogenreaktion. Ein sehr kleines Ölkörperchen.

Torula 2. Geschlossene Haut, die Wandung des Kölbchens mit kleinen Kolonien bedeckt. Absatz wie bei Torula 9.

Mikroskopische Untersuchung: Die Formen der Hautzellen sind sehr verschieden: kugelförmig, ellipsoidisch und gestreckt ellipsoidisch. Sehr lange dünne Zellen. Zellen durchschnittlich klein, etwa 3 μ. Einzelne größere Zellen etwa 8 μ. Meist ein mäßig großes Ölkörperchen. In einzelnen Zellen starke Glykogenreaktion. Im Absatz vorherrschend dünne, lange Zellen, teilweise noch in Sproßverbänden. In einzelnen Zellen intensive Glykogenreaktion.

Torula 15: Schwache Haut, schleierartig, beginnende Haut- und Randbildung, geringer, weißer, feinmehliger Absatz, Flüssigkeit klar.

Mikroskopische Untersuchung: In der Haut meist kugelförmige bis ellipsoidische Zellen von 3—4 μ Durchmesser. Einzelne Sproßverbände sehr langer dünner Zellen. Einzelne größere rundliche Zellen (etwa 6 μ) keine

eigentlichen Riesenzellen. Zellhaut stark, Ölkörperchen klein. Öfter gewinnt man bei Häufung der Zellen den Eindruck, als ob ein Netzwerk vorhanden wäre. Dieser Eindruck wird durch zahlreiche stark lichtbrechende Körnchen hervorgerufen, welche den Zellen fest anhängen. Isolierte Zellen tragen diese Körnchen zahlreich an sich, während man isolierte Körnchen kaum antrifft. Die Ölkörperchen in den Zellen, wie die stark lichtbrechenden, den Zellen äußerlich anhaftenden Körnchen färben sich mit Osmiumsäure tief schwarzbraun. Große Öltropfen in anscheinend toten Zellen, mit Osmiumsäure schwarzbraun. Große Vacuolen; in diesen teilweise deutliche Glykogenreaktion. Der Absatz setzt sich im wesentlichen aus den gleichen Zellelementen zusammen wie die Haut, nur sind hier gestreckt ellipsoidische und wurstförmige Zellen häufiger, Riesenzellen (8—9 μ) zahlreich. Keulen- und birnförmige Zellen häufiger. Auch in den gestreckt-ellipsoidischen Zellen meist nur ein stark lichtbrechendes Körperchen. In den rundlichen Zellen zuweilen mehr als ein stark lichtbrechendes Körperchen; es ist dann zweifelhaft, ob beide Ölkörperchen sind oder ob hier schon Erscheinungen des Hungers und Zerfalles vorliegen. Häufig intensive Glykogenreaktion. Unter den stark lichtbrechenden Körpern in den Zellen sind solche zu unterscheiden, welche sich mit Methylenblau färben und solche, die dies nicht tun (lebende und tote Zellen).

Torula 16: wie Torula 9.

Mikroskopische Untersuchung: Die Hauptmasse des Absatzes wird aus dichtverflochtenen, nicht entwirrbaren Sproßverbänden langgestreckter, oft sehr dünner Zellen gebildet. Dazwischen finden sich dann kugelförmige bis ellipsoidische von 3—4 μ Größe. Riesenzellen mit großen Vacuolen und einem sehr kleinen Ölkörperchen von 8 μ Durchmesser. Häufig sehr starke Glykogenreaktion.

Torula 17: Keine Haut, kein Ring oder Rand. Absatz rein weiß, mäßig, gleichmäßig, Oberfläche sammetartig.

Mikroskopische Untersuchung: Zellen kugelförmig bis schwach ellipsoidisch. Größe sehr verschieden

1—11 μ, durchschnittlich 3—4 μ. Häufig an größeren Zellen abgelöste Hautschicht. Ein bis drei stark lichtbrechende Körperchen in den Zellen, nach verschiedenen Beobachtungen jedenfalls verschiedenen Ursprungs. In den kleineren Zellen meist ein stark lichtbrechendes Körperchen. Sehr häufig intensive Glykogenreaktion in den großen Vacuolen.

Torula 11: Schwache Haut, schleierartig. Flüssigkeit klar, Absatz mäßig, weiß, gleichmäßig, auf der Oberfläche sammetartig.

Mikroskopische Untersuchung: Die Haut besteht aus typischen, vorherrschend kugelförmigen bis ellipsoidischen Torulazellen (3—5 μ), Riesenzellen (8 μ). Ein größeres stark lichtbrechendes Körperchen. Häufig intensive Glykogenreaktion. In den Zellen des Absatzes ist die Glykogenreaktion seltener als in den Hautzellen. An den stark lichtbrechenden Körperchen tief schwarzbraune Färbung mit Osmiumsäure.

Farbstoffbildung wurde im Gegensatz zu den mit 2 % Pepton versetzten Kulturen nicht beobachtet. Wenn auch das Wachstum in der stickstoffreien Nährlösung Ia hinter derjenigen in der stickstoffhaltigen IIa zurückblieb, so war es doch noch ein verhältnismäßig gutes.

Das Wachstum in Nährlösung IIa war ein gutes. Die äußeren Erscheinungen stimmten im allgemeinen mit denjenigen in Saccharose-Hefewasser bei der Versuchsreihe über das Verhalten der Torula-Arten gegen verschiedene Zuckerarten überein. Die in einzelnen Kulturen beobachtete Farbstoffbildung wird in einem besonderen Kapitel erörtert werden.

Die Beobachtungen an den Riesenkolonien nach 45 Tagen und nach 4 Monaten über die äußeren Erscheinungen auf Nährboden Ib und IIb (Saccharose-Agar und Saccharose-Pepton-Agar) sind im folgenden beschrieben (vgl. hierzu die Beobachtungen nebst Tafeln von H. Will, Zentralblatt für Bakteriologie 2. Abt. XVII Bd. 1906, Seite 435 ff.).

A. Alter der Kulturen 45 Tage:

Torula 7 Ib. Durchmesser der Kolonien 10—14 mm, der Rand ist regelmäßig, der Belag charakterlos milchweiß, schleimig glänzend, 1—2 mm hoch, die Oberfläche ist glatt.

Torula 7 IIb. Der Belag ist kreisrund, Durchmesser etwa 20 mm, der Rand verläuft gleichmäßig mit schwachen Buchten, Dicke etwa 4 mm, Farbe gelblich-elfenbeinfarben, das Substrat ist kaffeebraun (wie Milchkaffee) gefärbt. Die etwa 2 mm breite, dünnere Randpartie ist schwächer gefärbt und dadurch deutlich abgegrenzt; sie hebt sich noch dadurch ab, daß sie trocken, mattglänzend ist, während der übrige Teil schleimig glänzend erscheint.

Torula 8 Ib. Der Belag ist unregelmäßig infolge unregelmäßiger Verteilung des Impfmaterials, elfenbeinfarben, Durchmesser 6—8 mm, die zentrale Partie ist ganz gleichmäßig mit glatter Oberfläche; die Randpartie zeigt stromähnliche Ausbildung mit radialer Streifung infolge stärkerer Entwicklung einzelner Sektoren.

Torula 8 IIb. Durchmesser 2—3 cm, analog Nr. 7, jedoch sind einzelne Sektoren des Belags stärker entwickelt. Die Oberfläche des Belags ist teils schleimig glänzend, teils matt (die stärker entwickelten Sektoren), Randpartie wie bei 7. Das Substrat ist schmutzig braun gefärbt, in der einen, stärker gefärbten Kultur befinden sich viele Kristalle im Belag.

Torula 1 Ib. Durchmesser der Kolonien etwa 6 mm. Die Farbe des flachen Belags, der in der Mitte etwas eingesenkt ist, ist rein weiß, die zentrale Partie erscheint mehr trocken, die breite Randzone emailleartig glänzend.

T o r u l a 1 IIb. Durchmesser der Kolonien etwa 25 mm. Der Belag zeigt in der Form sehr viel Übereinstimmung mit Fig. 18 Tafel II in der Abhandlung von W i l l. Die zentrale, sternförmige Partie ist elfenbeinfarben, die übrige Partie milchweiß gefärbt und deutlich radial gestreift. Der Rand erscheint infolge stärkerer Entwicklung einzelner Sektoren schwach gebuchtet, die Randlinie verläuft in schwachen, flachen Wellenlinien.

T o r u l a 9 Ib. Der Belag ist glasig, weiß, mit warzenartigen, heller gefärbten, flachen Erhebungen, die unregelmäßige Randlinie ist teilweise tief gebuchtet. Über die Randlinie des Oberflächenbelags hinaus in einer Zone von 4—5 mm sind in das Substrat fein verzweigte Büschel von Zellen hinausgewachsen. Durchmesser 4—5 mm.

T o r u l a 9 IIb. Durchmesser der Kolonien 10—12 mm. Der Belag ist flach ausgebreitet. Die beiden Kolonien sind verschieden entwickelt, bei der einen ist der Belag nur schwach und zeigt deutliche radiale Streifung in weiten Abständen infolge ungleichmäßiger Entwicklung einzelner Sektoren. Die ungleichmäßige Randlinie verläuft im allgemeinen in flachen Wellenlinien und ist an einzelnen Stellen tiefer gebuchtet. Die Oberfläche erscheint matt glänzend, die Randzone schräg abfallend mit deutlicher radialer Streifung und tiefer eingeschnittenem äußeren Teil. Die Farbe ist bei der einen Kultur tief lederbraun, bei der anderen heller.

T o r u l a 10 Ib. Die Entwicklung ist nächst Torula 15 am schwächsten, der Durchmesser der Kolonien beträgt nur 4—6 mm. Die gleichmäßige milchweiß gefärbte Oberfläche erscheint emailleartig glänzend, die Randpartie der einen Kolonie

ist deutlich gelappt mit radialer Streifung. Die Randlinie erscheint unregelmäßig, weil einzelne Sektoren stärker entwickelt sind. Bei der zweiten Kolonie ist die Entwicklung regelmäßiger.

Torula 10 IIb. Die flach ausgebreiteten Kolonien sind gelblich weiß gefärbt, einzelne Sektoren stärker entwickelt. Zwischendurch erscheint der Belag dünn und durchscheinend mit konzentrischer Streifung, daher sternförmige Zeichnung auf der Oberfläche. Die Randlinie erscheint schwach gebuchtet.

Torula 2 Ib. Durchmesser des flachen Oberflächenbelags 25—26 mm. Die beiden Kolonien sind verschieden entwickelt. Bei der einen ist die Randpartie stärker und gelappt, die zentrale Partie etwas erhaben mit rauher Oberfläche, während diejenige der Randpartie glatt ist. Die zweite Kolonie ist regelmäßiger entwickelt und nicht so stark gelappt. Die Randlinie ist jedoch ebenfalls tief gebuchtet. Die zentrale Partie erscheint etwas eingesenkt mit flachen Erhebungen auf der Oberfläche. Farbe milchweiß, emailleartig glänzend.

Torula 2 IIb. Belag etwa 30 mm im Durchmesser, flach ausgebreitet mit deutlich ausgeprägter radialer Streifung, die durch stärkere Entwicklung einzelner Sektoren veranlaßt ist. Oberfläche mit Ausnahme der Streifung glatt, die zentrale Partie uneben, die Randlinie verläuft in schwachen Wellenlinien und ist nur schwach gebuchtet. Farbe schmutzigweiß.

Torula 15 Ib. Durchmesser 4—5 mm, schwach gewellter Belag von glasig milchigem Aussehen, matt glänzend, Randlinie verläuft unregelmäßig infolge ungleichmäßig entwickelter Randzone, die da und dort etwas tiefere Einschnitte zeigt.

T o r u l a 15 IIb. Durchmesser der sehr charakteristischen Kolonien 25 mm. Der stark in die Höhe gewachsene Belag ist auf seiner ganzen Oberfläche gröber und feiner gekräuselt, die Randpartie stromartig ausgebildet. Im wesentlichen stimmt das Aussehen der Kolonien mit Abbildung 24 auf Tafel III in der Abhandlung von W i l l überein.

T o r u l a 16 Ib. Durchmesser der Kolonien 4—5 mm. Der Belag ist auf der Oberfläche schwach entwickelt, Randzone gelappt, Farbe milchigglasig. Die Hauptentwicklung erfolgt innerhalb des Substrats in einer Zone von 3—4 mm.

T o r u l a 16 IIb. Belag etwa 25 mm im Durchmesser, flach, Randzone gelappt und allmählich in das Substrat übergehend, weshalb die Randzone nicht scharf begrenzt ist. Oberfläche matt, rauh, teilweise mit zahlreichen Krateröffnungen. Farbe hell-gelblich-braun.

T o r u l a 17 Ib. Gut entwickelte Kolonien von 10 mm Durchmesser, flacher Belag, zentrale Partie matt glänzend, schmale Randzone flach abfallend, mit deutlich radialer Streifung. Daher ist auch die Randlinie teilweise tief gebuchtet, Randzone glänzend, Farbe milchweiß.

T o r u l a 17 IIb. Sehr charakteristischer flacher Belag von 30 mm Durchmesser, der größte Teil der Oberfläche ist matt glänzend, Randzone ganz weiß, die oberste Partie glänzend mit deutlicher radialer Streifung, Randzone ungleichmäßig entwickelt mit teilweise sehr tiefen Einbuchtungen, die Farbe und Beschaffenheit ist, abgesehen von den glänzenden Partien, gipsähnlich.

T o r u l a 11 Ib. Durchmesser 4—5mm. Flach ausgebreitet, Oberfläche feiner und gröber in radialer Richtung gefaltet; der größte Teil der Oberfläche

matt kreidig mit einzelnen warzenartigen Erhebungen wie in Fig. 9 Tafel I. Randlinie sehr ungleichmäßig, tief gebuchtet, äußerste Randzone matt glänzend. Im allgemeinen stimmt die Kolonie mit der in Figur 9 Tafel I überein.

Torula 11 IIb. Oberfläche matt, gelblich weiß, Mittelpunkt warzenförmig erhöht und gegen den Rand zu geströmt und schwach glänzend. Rand stark wallartig verdickt und schwach gebuchtet, deutlich dunkler gefärbt. Durchmesser der Kulturen 40 mm.

B. Alter der Kulturen 4 Monate.

Torula 7 Ib. Durchmesser 20—25 mm, im übrigen derselbe Charakter wie früher.

Torula 7 IIb. Durchmesser 20—25 mm, kreisrunder Belag, der allgemeine Charakter hat sich nicht geändert. Der schleimige Rand verläuft teilweise regelmäßig, teilweise mit schwacher Buchtung. Deutliche radiale Streifung, an der Randlinie sind einzelne Partien etwas stärker entwickelt. Die Färbung ist dunkler, bei der einen Kolonie etwa wie Milchkaffee, bei der anderen hell kaffeebraun. Ebenso ist die Färbung des Substrats.

Torula 8 Ib. Durchmesser 10—20 mm, die Weiterentwicklung ist im gleichen Sinn wie früher erfolgt, radiale Streifung der Randpartie sehr scharf ausgeprägt, die stromartigen Partien haben sich sehr deutlich ausgebildet.

Torula 8 IIb. Durchmesser 30 mm. Die Kulturen sind sehr charakteristisch durch die tief dunkelbraune, fast schwarze Farbe des Belags und des Substrats. Aussehen der Kulturen etwas verschieden, jedoch nur graduell. Die am besten entwickelte Kultur besteht aus einem

flachen bis zu 2 mm hohen Belag mit fast glatter Randlinie, nur hie und da ragt ein kleiner Ausläufer über den Rand hervor. Da und dort erscheint die Randlinie ganz schwach gebuchtet. Der Oberflächebelag der Kulturen zeigt eine etwas stärkere Entwicklung einzelner verschieden breiter Sektoren mit deutlich radialer Streifung. Die Oberfläche der stärker entwickelten Sektoren erscheint da und dort gerunzelt, matt bis matt glänzend. Die glätteren Partien der Oberfläche sind glänzend. Überall treten die in großer Zahl eingelagerten Kristalle hervor. Das Substrat erscheint im durchfallenden Licht tief dunkelbraun.

Torula 1 Ib. Durchmesser 12 mm ohne die Anhänge, mit den Anhängen etwa 16 mm. Die beiden Kulturen sind sehr ungleich infolge der Aussaat entwickelt. Der Charakter der Kulturen, soweit er den Oberflächenbelag betrifft, ist im allgemeinen der gleiche geblieben. Die Randlinie, die schwach radial gestreift erscheint, verläuft unregelmäßig insofern, als an verschiedenen Stellen sich einzelne, scharf abgegrenzte, stärker entwickelte Partien über den Rand emporschieben. Über den Rand des Oberflächenbelags sind innerhalb des Substrats fein verzweigte Auswüchse hinausgewachsen. Das gleiche Bild erscheint auch in der Randpartie der ungleichmäßig entwickelten Kulturen.

Torula 1 IIb. Durchmesser 27 mm. Der allgemeine Charakter der Kulturen ist derselbe wie früher, sie erscheinen flach gewölbt. Die Oberfläche zeigt einzelne etwas stärker entwickelte Sektoren, die zentrale Partie schwache Falten. Oberfläche radial gestreift mit blasenförmigen Erhebungen an einzelnen Stellen. Die Rand-

linie erscheint stellenweise tiefer gebuchtet infolge einzelner stärker hervortretender fächerförmiger Partien. Eine äußere, nur 1—1,5 mm breite Randzone hebt sich infolge ganz flachen Verlaufs deutlich ab. An einzelnen Stellen des Randes innerhalb des Substrats sind fein verzweigte, büschelförmige Ausläufer erkennbar.

Torula 9 Ib. Durchmesser des Belags zirka 6 mm, innerhalb des Substrats zirka 20 mm. Der allgemeine Charakter ist der gleiche geblieben wie früher, die Kolonien haben sich zum größten Teil innerhalb des Substrats entwickelt. Die Oberfläche des gelben bis glasig-schleimig-glänzenden Oberflächenbelags ist mit flachen, breiteren Erhebungen bedeckt; die Kolonien sind mit ungleichmäßigen, zarten und reichlich verzweigten Büscheln tief im Substrat ausgebreitet.

Torula 9 IIb. Beide Kolonien sind verschieden entwickelt, die eine schließt sich der früher skizzierten an; Durchmesser 20 mm, flach, hellbräunlich gefärbt, in weiten Abständen radial gestreift, an einzelnen Stellen warzenförmige Erhebungen. Die Oberfläche ist im übrigen glatt und trocken glänzend, eine flache Randzone von 2—3 mm Durchmesser hebt sich scharf ab. Die Randlinie ist an den meisten Stellen tiefer gebuchtet, infolge stärkerer Entwicklung einzelner Partien. Über den Rand des Oberflächenbelags ragen innerhalb des Substrats büschelförmige, zarte Auswüchse hervor. Farbe des Substrats tief lederbraun. In der zweiten Kolonie Oberflächenbelag nicht scharf abgegrenzt; er geht ganz unregelmäßig in weit verzweigte, teils feinere, teils gröbere Auswüchse über. Die Oberfläche ist, soweit sie vollständig etwa 2—3 mm

über das Substrat hervorragt, mit „Kratern" bedeckt. Oberfläche matt glänzend, Farbe gelbbraun, Substrat schwach bräunlich gefärbt.

Torula 10 Ib. Durchmesser 6—10 mm; der allgemeine Charakter ist der gleiche wie früher. Die kleinere Kolonie zeigt keine Besonderheiten; milchig-weiß schwach glänzender Belag mit unregelmäßiger Umrandung. Diese Unregelmäßigkeit ist dadurch veranlaßt, daß über den Rand hinaus in das Substrat hinein Büschel von Zellen wachsen. Die zweite Kolonie zeigt etwas mehr Charakter. Von der zentralen, deutlich abgerundeten Partie gehen unregelmäßig entwickelte Sektoren aus, die teils scharf begrenzt und tief gebuchtet sind. Andere erscheinen unregelmäßig begrenzt mit grob zackigen, teils innerhalb des Substrats, zum Teil bis an die Oberfläche reichenden, reich verzweigten zarten Auswüchsen. Farbe milchig bis glänzend.

Torula 10 IIb. Durchmesser zirka 27 mm. Der allgemeine Charakter ist der gleiche wie früher. Auf dem zentralen Teil treten sternförmig gelagerte Partien von dunklerer, hellbräunlicher Färbung stärker hervor. Die übrigen Partien des flachen Oberflächenbelags sind in weiten Abständen radial gestreift. Die Randlinie erscheint infolge ungleicher Entwicklung einzelner Sektoren ungleichmäßig und tiefer gebuchtet, konzentrische Streifung noch deutlich sichtbar, Kolonien scharf begrenzt. Bei der zweiten, sehr unregelmäßigen Kolonie an einzelnen Stellen der Randlinie scheinbar Auswüchse.

Torula 2 Ib. Oberflächenbelag zirka 8—10 mm, mit den Auswüchsen zirka 25—26 mm. Beide Kolonien

haben größtenteils innerhalb des Substrats deutlich radial ausgebreitete, fein verzweigte Zellbüschel entwickelt. Der Oberflächenbelag zeigt hinsichtlich Form und Färbung genau die gleiche Erscheinung wie früher.

Torula 2 IIb. Durchmesser 30 mm. Die Kolonien sind flach ausgebreitet. Die stärkere Entwicklung einzelner Sektoren tritt jetzt etwas mehr zurück, da über die ganze Oberfläche hin ausgebreitet meist radial ausstrahlende, grobe Faltungen vorhanden sind. An der Randpartie treten radiale Streifungen deutlich hervor. Die Randlinie ist sehr unregelmäßig und teilweise nicht scharf abgegrenzt, da fein verzweigte Büschel von Zellen über sie in das Substrat hinauswachsen. Randlinie teilweise tiefer gebuchtet. Farbe hell schmutzigbraun.

Torula 15 Ib. Durchmesser 6—7 mm. Der Charakter ist der gleiche wie früher.

Torula 15 IIb. Durchmesser zirka 25 mm. Charakter der Kolonien genau der gleiche wie früher. Die Kräuselung ist stärker ausgeprägt. Am Rand erscheinen die Kolonien sehr gleichmäßig in die Gelatine hineingewachsen, auch die in das Substrat hineingewachsenen Teile sind scharf begrenzt.

Torula 16 Ib. Durchmesser des Oberflächenbelags etwa 5, der ganzen Kolonie etwa 20 mm. Der Charakter der Kolonien stimmt vollständig mit den früheren Beobachtungen überein; die im Substrat wachsenden Partien erscheinen wolkig. Verzweigung und büschelförmige Anordnung ist nicht erkennbar.

Torula 16 IIb. Durchmesser des Oberflächenbelags etwa 20, innerhalb der Gelatine 30—35 mm. Die Kolonien haben sich in genau der gleichen

Weise, wie früher gekennzeichnet, weiter entwickelt. Starke Entwicklung innerhalb des Substrats, die Auswüchse radial ausstrahlend.

Torula 17 Ib. Durchmesser 10—12 mm. Charakter der gleiche wie früher, Randzone emailleartig glänzend.

Torula 17 IIb. Durchmesser 40 mm. Der allgemeine Charakter ist noch genau der gleiche wie früher, nur treten im allgemeinen radial, im übrigen aber unregelmäßig verlaufende, ganz schwache Faltungen der Oberfläche auf. Die Farbe ist schmutzig gelbbraun.

Torula 11 Ib. Durchmesser 10 mm. Zentrale Partie matt, auf der Oberfläche glatt, ziemlich flach abfallend. Die Randzone ist sehr ungleichmäßig entwickelt, stromartig ausgebildet mit radialer Streifung. Infolge ungleichmäßiger Entwicklung der Randzone ist auch die glänzende Randlinie ungleichmäßig. Farbe milchig weiß.

Torula 11 IIb. Durchmesser 50 mm. Die Kolonien haben sich fast über die ganze Oberfläche des Substrats ausgebreitet. Belag relativ dick, 1 mm. Die Oberfläche ist in ganz ähnlicher Weise wie bei Torula 17 von feinsten Faltungen bedeckt. Farbe der Oberfläche matt schmutzig braun, Rand teilweise stark gebuchtet, infolge unregelmäßiger Ausbildung.

Auf die anatomische Seite der Erscheinungen an den Riesenkolonien soll nicht näher eingegangen werden, doch sei das Hineinwachsen der Kolonien in das Substrat in Form von großen, zarten Büscheln besonders hervorgehoben. Das Wachstum der Riesenkolonien auf den Nährböden ohne Stickstoffzusatz war also ein verschiedenes, zum Teil jedoch ein noch recht bedeutendes. Es sei in dieser Hinsicht auf Torula 7 und 8, besonders aber auf Nr. 16 hingewiesen.

Der Versuch auf festen Nährböden läßt also ebenso wie derjenige in Nährflüssigkeit den Schluß zu, daß tatsächlich unter den untersuchten Formen sich einige befinden, denen in ausgesprochener Weise die Fähigkeit der Assimilation von Stickstoffverbindungen aus der Luft zukommt. Allerdings könnte auch noch in Betracht kommen, daß bei starkem Wachstum der Kolonien die gleiche zur Verfügung stehende Stickstoffmenge sich auf eine größere Anzahl von Zellen verteilt[42]). Dagegen spricht, abgesehen davon, daß eine Stickstoffzunahme in den Kulturen zweifellos nachgewiesen werden konnte, das mikroskopische Bild der Kulturen in der Nährlösung Ia. Es ist im allgemeinen, wenn auch da und dort ein weniger freudiges Wachstum sich zu erkennen gibt, und abnorme Zellformen auftreten, durchaus normal, wie sich aus dem Vergleich mit den Feststellungen von Will über die spezielle Morphologie in seiner III. Mitteilung (Zentralblatt für Bakteriologie, II. Abt. Bd. XVII, 1908, S. 81) ergibt. Zwar besteht in den Kulturen allgemein ein gewisser Hungerzustand; dieser braucht aber nicht von vornherein auf die Zusammensetzung der Nährlösung, insbesondere auf Stickstoffmangel zurückgeführt werden. Das Alter der Kulture trägt sicherlich mit zu diesem Zustand bei. Die Anzahl der toten Zellen bewegt sich in den meisten Kulturen durchaus in den gewöhnlichen Grenzen, was sicherlich nicht der Fall wäre, wenn den neuentstehenden Generationen nur eine beschränkte Stickstoffmenge in der Nährlösung und in der Einsaat zur Verfügung gestanden hätte.

Obwohl wir uns von vornherein darüber klar waren, daß die in kleinerem Maßstab durchgeführten Versuche, welche nur zu einer allgemeinen Orientierung dienen sollten, zu quantitativen chemischen Untersuchungen über die Stickstoffbildung nur bedingt geeignet waren, so haben wir doch insbesondere auch in Hinsicht auf die von Zickes durchgeführten Versuche versucht, so weit als möglich in diese Einsicht zu erhalten. Da Nährlösung Ia absolut stickstoffrei war, und der Nährboden Ib nur sehr geringe Mengen Stick-

42) Lafar, Fr. Technische Mykologie 1 S. 125.

stoff, nämlich 5,664 mg pro Kölbchen enthielt, war anzunehmen, daß die untersuchten Torulaarten zur Deckung ihres bei der Vermehrung nötigen Stickstoffbedarfes, die wie bemerkt, schon nach den äußeren Wachstumserscheinungen verhältnismäßig lebhaft war, den in der Luft enthaltenen Stickstoff herangezogen hatten.

Zur Bestimmung des gefundenen Stickstoffes bedienten wir uns der Methode von Kjeldahl, welche vor der Methode von Dumas dann den Vorzug verdient, wenn es sich um Bestimmung des Gesamtstickstoffs der Nährlösung handelt. Außerdem bestand ja die gestellte Aufgabe lediglich darin, festzustellen, ob überhaupt innerhalb der Versuchsdauer Stickstoff assimiliert worden war. Für diesen Zweck ist die Methode von Kjeldahl genügend genau.

Der Anwendung der Dumas'schen Methode stand auch noch der Umstand entgegen, daß sich die erzeugten Zellenmassen nicht quantitativ filtrieren lassen und infolgedessen auch die Fehler bei den nur in kleinem Maßstab durchgeführten Versuchen ganz bedeutend gesteigert worden wären.

Zur Bestimmung der Stickstoffaufnahmen bezw. Stickstoffzunahme wurde in folgender Weise verfahren:

Der Inhalt der Freudenreich- bezw. Erlenmeyer-Kölbchen wurde quantitativ in Zersetzungskölbchen gespült und 20 ccm konzentrierte Schwefelsäure, sowie ein Tropfen Quecksilber als Katalysator zugegeben. Zur Vermeidung des Schäumens wurde ein Stückchen Paraffin zugesetzt und dann so lange aufgeschlossen, bis die Flüssigkeit farblos war.

Nach dem völligen Erkalten des Zersetzungskölbchens wurde mit Wasser verdünnt und 100 ccm einer starken Natronlauge (ein Teil geschmolzenes Natriumhydroxyd auf 100 Teile Wasser), die mit Natriumsulfid versetzt war, sowie ein Stückchen Zink zugegeben. Nun wurde das freigewordene Ammoniak in die Vorlage, welche eine gemessene Menge einer $\frac{n}{50}$ Schwefelsäure enthielt, überdestilliert. Nach der Destillation wurde das Eintauchrohr äußerlich und innerlich gut mit destilliertem Wasser Tistrierkölbchen abgespült und mit

n/50 Natronlauge und Lakmuslösung als Indikator zurücktitriert. Da die Kulturkölbchen abgemessene gleiche Mengen der Nährlösung enthielten, so entsprachen bei der Nährlösung Ia die verbrauchten Mengen der Säure direkt der von den Organismen aufgenommenen Stickstoffmenge, bei der Nährlösung Ib mußte noch der ursprüngliche Gehalt an Stickstoff berücksichtigt werden.

Die assimilierten Stickstoffmengen schwankten zwischen 6,832 und 10,248 mg Stickstoff in Nährlösung Ia und zwischen 1,168 und 4,584 mg Stickstoff in Nährlösung Ib.

Die Art des Nährbodens (fest oder flüssig) hatte also unter den angegebenen Versuchsbedingungen keinen nachweisbaren Einfluß auf den Grad der Stickstoffassimilation.

Aus den Versuchen geht folgendes hervor:

I. Sämtliche untersuchten Torulaformen sowohl die Arten 7, 8, 11 und 17 der ersten Gruppe, wie auch die Arten 1, 2, 9, 10, 15 und 16 der zweiten Gruppe haben die Fähigkeit sich, in und auf stickstoffreien oder nahezu stickstoffreien Nährböden zu vermehren, jedoch ist die Vermehrung, wie zu erwarten, weniger lebhaft, wie auf stickstoffhaltigen Nährböden.

II. Sämtliche untersuchten Torulaformen besitzen die Fähigkeit, den in der Luft enthaltenen Stickstoff zu assimilieren.

Es bleibt vorbehalten, Versuche in größerem Maßstab durchzuführen, bei welchen alle Vorsichtsmaßregeln, im besonderen die Entfernung der Stickstoffverbindungen aus der zu den Kulturen zutretenden Luft beachtet werden sollen. Erst dann wird sich auch ein Vergleich mit den Untersuchungen mit Zikes ziehen lassen. Ebenso kann erst durch Versuche in größerem Maßstab festgestellt werden, ob die Unterschiede in der Fähigkeit, den Luftstickstoff zu binden, zwischen den einzelnen Arten groß genug sind, um daraus ein Merkmal zur Unterscheidung der Arten abzuleiten.

V. Über die Enzymwirkungen der Torulaceen.

Versuche zu deren Nachweis mittelst der Chromogrammethode nach J. Grüss.

Bei der Charakterisierung der Torulaceen sind auch deren Enzymwirkungen zu berücksichtigen, denn diese gehören nach allem, was darüber bekannt ist, zu den konstantesten Merkmalen der Mikroorganismen.

Über die Enzymwirkung der Torulaceen ist nach der zusammenfassenden Übersicht von H. Will im Handbuch der technischen Mykologie von F. Lafar[43]) bis jetzt nur wenig bekannt.

Die wirksamen Enzyme sind in keinem Falle nach chemischen Methoden dargestellt worden. Ihre Gegenwart ist vielmehr in den meisten Fällen nach Analogien erschlossen worden. Beijerinck[44]) schließt auf ein Inversionsvermögen der „Kefirhefe", welche zu den Torulaceen gehört, nach den Erscheinungen auf seinen bekannten Leuchtbakteriengelatineplatten. Er fand, daß Photobakterium phosphorescens, welches auf Gelatine sein Leuchten eingestellt hatte, wieder aufleuchtete, wenn Rohrzucker, Raffinose oder Milchzucker auf die Gelatine gebracht und gleichzeitig darauf die Kefirhefe kultiviert wurde.

Da bislang alle von uns geprüften Torulaarten Monosaccharide in Alkohol und Kohlensäure zerlegen, so müssen sie eine Enzymsystem (Zymase) enthalten, welche alkoholische Gärung verursacht.

Invertase ist nach den Angaben aus früherer Zeit bei vielen Torula-Arten vorhanden. Schuurmans-Stekhoven[45]) hat die Kefirhefe Beijerincks direkt und außerdem deren Chloroformauszug auf Rohrzucker und Raffi-

---

43) Handbuch der Techn. Mykologie von Fr. Lafar 4 S. 293.

44) Beijerinck, Zentralblatt f. Bakt. II 1901 7 S. 561., Ebenda 1902 R. 9 S. 3.

45) Schuurmans-Stekhoven, J. H., Dissertation Utrecht 1891, und Onderzockingen, gedon in het Physiolog. Laborat. der Utrechtschen Hoogschul. Uitgeg. d. Th. W. Engelmann en C. A. Pekelharing. Vierte Reeks I 2. Utrecht.

nose einwirken lassen, wobei er polarimetrisch und öfter auch mit Phenylhydrazin nach Inversionsprodukten suchte. Er fand, daß die Kefirhefe durch Enzyme auf die beiden Zucker wirkte, Milchzucker und Maltose aber unverändert ließ. Emil Fischer[46]) fand, daß die Rohrzucker vergärende „Milchzuckerhefe" (also eine Torulaart) ein Rohrzucker spaltendes Enzym bildet. Er stellte auch die wichtige Tatsache fest, daß manche Enzyme der Sproßpilze in dem wässerigen Auszug erst dann nachgewiesen werden können, wenn die Haut der Zellen zerstört wird. Den Untersuchungen von Van Laer[47]) zufolge soll sich das Inversionsvermögen erst in gewissen Nährlösungen geltend machen.

Aus den schon von Will[48]) und Dachs[49]) durchgeführten Untersuchungen der ersten Gruppe der Torulaceen und der Untersuchung der vorliegenden, zum Teil der ersten Gruppe, zum größeren Teil der zweiten Gruppe der Torulaceen angehörenden Arten geht zweifellos hervor, daß alle von uns untersuchten Arten eine Enzymwirkung besitzen, durch welche Disaccharide in Monosaccharide, welche der alkoholischen Gärung anheim fallen, zerlegt werden. Alle Polysaccharide werden ja, wenn sie vergären, erst in einfache Zuckerarten übergeführt. Da Saccharose von allen Arten vergoren wurde, ist auf die Gegenwart von Invertase zu schließen.

Das Vorkommen von Laktase ist zuerst von Beijerinck[50]) behauptet, von Schuurmans-Stekhoven[51]) und Freudenreich[52]) bestritten, von E. Fischer[53]),

---

46) Bericht. Deutsch. Chem. Gesellschaft 1894 27 S. 3481.

47) Van Laer, Henri. Sur quelques levures non inversives. Zentralbatt. Bakt. II 1901 14 S. 550.

48) III. Mitteilg. S. 613.

49) Dissertation S. 10 und IV. Mitteilg. Will & Dachs S. 387.

50) Zentralbatt Bakt. 1889 6 S. 44.

51) a. a. O. S. 119.

52) Freudenreich, Eduard von, Zentralblatt Bakt. II 1897 3 S. 47.

53) Fischer, Emil. Ber. Deutsch. Chem. Ges. 1894 27 S. 3481.

sowie von E. Buchner und Meisenheimer[54]) bestätigt worden.

Die Gegenwart von Maltase oder Glukase und Laktase in unseren Torula-Arten kann durch die Vergärung von Maltose und Milchzucker als bewiesen gelten.

Da nach den Ergebnissen der Kleingärmethode auch Raffinose von allen acht vorliegenden Torulaformen vergoren wurde, ist anzunehmen, daß sie ein Enzym bilden, welches das Trisaccharid spaltet.

Dachs suchte bei den von ihm untersuchten Torula-Arten der ersten Gruppe eine diastatische Wirkung nachzuweisen, jedoch gelang es ihm nicht. Die Gegenwart von eiweißlösenden Enzymen beweist die Verflüssigung von 10 prozentiger Würzegelatine durch die 13 von Will[55]) beschriebenen Torulaarten.

Die Gegenwart eines Wasserstoffsuperoxyd zersetzenden Enzyms wurde schon von Henneberg[56]) sowie von Dachs für die von ihm untersuchten Torulaarten der ersten Untergruppe bewiesen.

Infolgedessen wurden auch die vorliegenden Torulaarten in dieser Hinsicht geprüft.

Eine Versuchsreihe wurde mit 70 Tage altem Material, das in Würze herangewachsen war und auf dem Höhepunkt der Entwicklung stand, in folgender Weise durchgeführt.

In Erlenmeyerkölbchen wurden je 2 ccm von den durch Aufschlemmen in Wasser von der Nährlösung befreiten Zellenmassen gegeben und zu diesen je 2 ccm einer zirka 2 prozentigen Wasserstoffsuperoxydlösung zugesetzt. Zur Kontrolle wurden Kölbchen aufgestellt, in welchen vor Zusatz der 2 ccm Wasserstoffsuperoxyd die Zellen einerseits durch Kochen, anderseits durch Zusatz von 25 ccm Schwefelsäure (1:3) abgetötet worden waren. Sämtliche Kolben waren zum Schutz gegen Staub bedeckt worden.

---

54) Buchner, E. und Meisenheimer. Ber. Deutsch. Chem. Ges. 1903. 36 S. 634.

55) III. Mitteilg. S. 704.

56) Henneberg, W. Zeitschr. f. Spiritusindustrie. 1904 27 S. 96.

Bei Torula 7 und 8 trat nach etwa 20 Sekunden, bei Torula 1, 9, 10, 2, 15 und 16 sofort nach dem Zusatz der Wasserstoffsuperoxydlösung lebhafte Sauerstoffentwicklung auf; bei den Kontrollversuchen war eine solche äußerlich nicht sichtbar.

Zu dem Versuch war die verwendete Wasserstoffsuperoxydlösung durch Verdünnung der käuflichen Lösung mit Wasser auf zirka 2 % gebracht worden.

Zur Bestimmung des nach 14 stündiger Versuchsdauer unzersetzt gebliebenen Wasserstoffsuperoxyds wurde durch Auflösung von 3,2 g Kaliumpermanganat in 1 Liter Wasser eine annähernd n/10 Kaliumpermanganatlösung hergestellt und die Zahl der ccm der n/10 Kaliumpermanganatlösung ermittelt, welche zur Zersetzung von 2 ccm der verwendeten Wasserstoffsuperoxydlösung notwendig war. 2 ccm der Wasserstoffsuperoxydlösung entsprachen 18,5 ccm n/10 Kaliumpermanganatlösung. Vor der Titration erhielt jedes Kölbchen einen Zusatz von 25 ccm Schwefelsäure (1:3) wodurch das Wasserstoffsuperoxyd zersetzende Enzym unwirksam gemacht werden sollte und die Flüssigkeit die zur Titration notwendige saure Reaktion erhielt.

In der folgenden Tabelle sind die Ergebnisse des Versuchs zusammengestellt.

Nummer	7	8	1	9	10	2	15	16
Kontrollkölbchen mit 25 ccm H_2SO_4	16,6	16,2	16,7	16,7	16,3	16,8	16,0	16,2
Kontrollkölbchen gekocht	16,8	16,1	16,7	16,9	16,5	16,9	16,3	16,1
Versuch mit lebenden Zellen	0,25	0,20	0,20	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25

Der Versuch wurde mit 14 Tage alten, gleichfalls in Würze herangewachsenen Zellmassen wiederholt, wobei sich annähernd dieselben Werte ergaben.

Eine zweite Versuchsreihe wurde mit Zellmassen, welche durch Glaspulver wie bei den später beschriebenen Versuchen zerrieben waren, durchgeführt und ebenso mit einem wässe-

rigen Auszug aus jenen. Dabei zeigte sich, daß bei der zerriebenen teigigen Masse die Reaktion viel schwächer war. Im filtrierten wässerigen Auszug ließen sich aufsteigende Sauerstoffbläschen überhaupt nicht mit Sicherheit erkennen. Daraus geht hervor, daß die unzerriebenen Zellen viel stärkere katalytische Wirkung besitzen, als die zerriebenen; dies hat auch Dachs[57]) für die von ihm untersuchten Torula-Formen festgestellt. Von einer vergleichenden Bestimmung des zersetzten Wasserstoffsuperoxyds wurde unter diesen Umständen abgesehen

Aus der Tabelle ist ersichtlich, daß zwar auch in den Kontrollkölbchen die für 2 ccm Wasserstoffsuperoxydlösung notwendige Menge n/10 Kaliumpermanganatlösung zur Titration nicht mehr ganz verbraucht wurde, daß aber gleichwohl der Unterschied zwischen dem Versuch mit lebenden Zellen und den Kontrollversuchen so bedeutend ist, daß die Wirkung einer Katalase angenommen werden darf. Ein Unterschied zwischen den von Dachs untersuchten Arten der ersten Gruppe und den vorliegenden Arten ergab sich durch die Versuche nicht, vielmehr zersetzen die Arten der ersten und zweiten Gruppe Wasserstoffsuperoxyd gleichmäßig lebhaft.

Ein neuer aussichtsvoller Weg zum Nachweis von Enzymwirkungen schien durch die von J. Grüß in einer Reihe von Publikationen allmählich entwickelte Chromogrammmethode, welche sich auf der Capillaranalyse aufbaut, geboten.

Der hauptsächlichste Vorteil der Chromogrammethode liegt Grüß[58]) zufolge darin, daß man in dem frisch separierten Säften die einzelnen Enzyme in ihren Wirkungen nebeneinander erkennen und vergleichen kann. Sie beruht darauf, daß durch gleichzeitige Capillaritäts- und Diffusionswirkung eine Trennung der einzelnen Körper aus einem Saftgemisch vor sich geht. Bei den Untersuchungen von Grüß handelt es sich wesentlich um den Nachweis von

57) Dissertation S. 52 und IV. Mitteilg. Will & Dachs S. 466.
58) Grüß, J. Ber. Deutsch. Bot. Ges. 1908 26a S. 193.

Oxydasen (Oxydase und Peroxydase), jedoch sollen sich durch seine Methode alle enzymatischen Wirkungen zur Darstellung bringen lassen.

Der von Grüß eingeschlagene Weg erschien um so aussichtsvoller, als nach seinen beschriebenen Versuchen selbst sehr geringe Mengen der Enzyme durch die Chromogrammethode nachgewiesen werden können.

Die Trennung löslicher Körper durch Capillaranalyse wurde zuerst von Schoenbein[59]) und seinen Schülern durchgeführt, worüber in dem Buch von F. Goppelsrieder: „Capillaranalyse beruhend auf Capillaritäts- und Absorptionserscheinungen" eingehend berichtet wird.

Die Versuchsobjekte von Grüß waren hauptsächlich Kartoffeln, jedoch hat er die Chromogrammethode auch schon zum Nachweis von Enzymen in Hefen benützt. Allerdings soll nach seinen Angaben hier der Nachweis von Oxydase nicht möglich sein. Die Untersuchungen an Hefe haben außerdem gezeigt, daß die Reaktionen durchaus nicht so glatt verlaufen, und daß sie infolge Gegenwart anderer Enzyme Störungen und Modifikationen erleiden. So gibt Grüß[60]) an, daß die Hefezellen kurz nach der Gärtätigkeit mit einem Reduktionskörper dermaßen angefüllt sind, daß ihre oxydasische Wirkung einem Reagens gegenüber verhindert wird. Das Vorkommen eines Reduktionskörpers ist schon früher wiederholt festgestellt worden[61]). Nachdem der Vacuolenzustand eingetreten ist, erfolgt die Änderung des pseudooxydasischen Zustands, in dem die Zellen auf ein geeignetes Reagens einwirken. Durch die Einwirkung des freien Sauerstoffs auf die Vacuolen enthaltenden Zellen erfolgt eine zweite Änderung des oxydasischen Zustandes. An einer anderen Stelle heißt es nach Beschreibung der nach der Behandlung von Hefe mit Guajak und Aminoviolett aufgetretenen Erscheinungen: die Oxydasewirkung verläuft keineswegs immer gemäß der aufgestellten Regel. Sie richtet sich

---

60) Wochenschrift für Brauerei 1901 18 S. 310.

61) Pozzi-Escot, Bull. Soc. Chim. Paris 1902 (3) 27 S. 460.

nach dem physiologischen Zustand, in dem sich die Zelle befindet. Die daraus resultierenden Beziehungen sind jedoch, wie man wohl a priori erwarten darf, konstant. Man ist demnach in der Lage, die zu erwartenden Oxydaseerscheinungen im voraus zu bestimmen, wenn der physiologische Zustand der Hefe bekannt ist und umgekehrt läßt sich aus der Erscheinung auf den Zustand schließen.

Grüß hat neben der Guajaklösung, welche er in die mikroskopische Untersuchung einführte, zwei neue Reagentien auf Oxydasen in die Capillaranalyse eingeführt, nämlich die Chlorverbindung des Tetramethylparaphenylendiamins[62]) (Aminviolett[63]) oder Tetralösung) und das Paraphenylendiamin (Ursol D) als Spezialreagens auf Peroxydase. Die Oxydasewirkungen lassen sich auch mit den anderen Salzen der Tetramethylparaphenylendiaminbasis hervorrufen. Das Sulfat reagiert etwas langsamer, das Acetat ist ungeeignet, weil es zu rasch reagiert. Das Phosphat ist schwer zum Kristallisieren zu bringen. Deshalb und weil das Chlorid leicht im Handel zu haben ist, war es für obige Versuche vorzuziehen.

Die Gujakreaktion zeigt keinen Unterschied in der Art der Sauerstoffübertragung an: sowohl der molekulare Luftsauerstoff, welcher durch Oxydasen auf Guajak übertragen wird, als auch der aus Wasserstoffsuperoxyd abgespaltene und dann auf das Reagens übertragene atomistische Sauerstoff färbt Guajak in gleicher Weise blau.

Die Tetralösung wird durch Oxydation mittels eines Sauerstoffatoms in einen violetten Farbstoff übergeführt. Sie färbt sich schon an der Luft und muß daher zu jeder Reaktion frisch bereitet werden. Durch neue Sauerstoffatome wird der Farbstoff wieder zerstört. Die Lösung darf nicht zu konzentriert sein, sie soll an der Luft nur ganz allmählich und sehr verzögert hell violett werden. Nach der Angabe von Grüß[64]) wird ein Körnchen des Präparats von der

62) Siehe 60.
63) Ber. Deutsch. Bot. Ges. 1908 26a S. 625 Anmerkung.
64) Siehe 60.

Größe eines Stecknadelkopfes in 4 ccm Wasser gelöst. Außer der gewöhnlichen Lösung ist noch eine zweite, Tetrasodalösung, nötig, und zwar in dem Falle, wenn die Flüssigkeit sauer reagiert. Diese wird in der Weise bereitet, daß 2,4 ccm Tetralösung mit 0,4 ccm einer bei 15° C gesättigten Sodalösung gemischt werden.

Zum Nachweis von Peroxydasen bei Gegenwart von Wasserstoffsuperoxyd ist das Ursol für sich nicht verwendbar, da es zu schnell und zu intensiv reagiert. Dagegen ist die weinsaure Verbindung besser geeignet, da sie langsamer wirkt. Diese wird in der Weise hergestellt, daß eine gesättigte alkoholische Lösung des Ursols zu einer gesättigten alkoholischen Weinsäurelösung gegeben wird. Es fällt ein weißer Niederschlag von Paraphenylendiamintartrat aus, der mit Alkohol und Äther gewaschen und umkristallisiert wird.

Das Ursoltartrat nimmt bei Gegenwart von verdünntem, neutralisiertem Wasserstoffsuperoxyd durch Peroxydasen eine grüne Färbung an, die bald in blau und schließlich in schieferfarben übergeht[65]). An einer anderen Stelle heißt es, daß bei Gegenwart von Wasserstoffsuperoxyd durch Hefenoxydase Schwarzfärbung eintritt. Jedenfalls ist also die Reaktion mit Ursoltartrat sehr vorsichtig auszuführen, um die durch Übertragung von atomistischem Sauerstoff hervorgerufenen Farbenänderungen nicht zu verdecken.

An der Luft wird die Lösung des Ursoltartrats mit oder ohne Wasserstoffsuperoxyd allmählich gelb bis gelbbraun bis dunkelbraun.

Auf die Auseinandersetzungen, welche in den Publikationen von Grüß über die Begriffsbestimmung der Enzyme, deren Gegenwart aus den Reaktionen bei der Capillaranalyse erschlossen werden soll, gemacht werden, soll hier nicht weiter eingegangen werden. Es erscheint jedoch notwendig, anzugeben, was Grüß) unter Oxydasen und Peroxydasen versteht.

---

65) Grüß, J. Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten 1907 17 S. 65.
66) Siehe 60.

Unter Oxydase ist ein Körper gemeint, welcher nachstehende Eigenschaften besitzt:

1. Der Körper nimmt aus der Luft freien Sauerstoff auf, welcher sich aber nicht mit ihm vereinigt, sondern auf einen anderen Körper übertragen wird; dieser wird dabei oxydiert.

2. Der Oxydationsvorgang erfolgt fortgesetzt; nimmt man das oxydierte Substrat hinweg und bringt von diesem neue Mengen hinzu, so werden auch diese oxydiert.

3. Durch Erhöhung der Temperatur wird die Sauerstoff übertragende Eigenschaft verändert und erlischt schließlich.

Oxydasewirkungen werden außer durch Tetralösung durch eine frisch bereitete alkoholische Lösung von Guajak nachgewiesen; es tritt Blaufärbung auf.

Peroxydasen übertragen atomistischen Sauerstoff, den sie aus Wasserstoffsuperoxyd abgespalten haben, auf Chromogene. Sie wirken dann Wasserstoffsuperoxyd gegenüber wie Katalase. Nach Grüß ist die Peroxydase das Reversionsenzym der Oxydase; sie macht die durch Oxydase bewirkte Oxydation rückgängig. Die Peroxydasen aktivieren die Oxydasen. Guajaklösung wird durch Peroxydase erst auf Zusatz von Wasserstoffsuperoxyd gebläut.

Bei einem Gemisch von Oxydase und Peroxydase gelingt es den Angaben von Grüß zufolge häufig durch Erhitzen in Alkohol, die Oxydase zu zerstören, während die Peroxydase übrig bleibt. Hierbei kann allerdings leicht einmal die Guajakreaktion mit Wasserstoffsuperoxyd ausbleiben, wenn die Menge der Peroxydase gering ist, da sie leicht durch den vom Wasserstoffsuperoxyd abgespaltenen Sauerstoff zerstört werden kann.

Durch wiederholtes Behandeln mit Wasserstoffsuperoxyd gelingt es nach Grüß[66]), die Peroxydase zu zerstören, ohne die Oxydase zu vernichten. Umgekehrt kann man durch Acetonbehandlung die Oxydase zerstören ohne Schaden für die Peroxydase. Endlich gelang es auch durch Diffusion, die Oxydase von der Peroxydase in einer mit Glycerin verriebenen Oberhefe zu trennen. Wie die Hefenoxydase, so

66) Siehe 65.

wirkt auch die Hefenperoxydase im allgemeinen nicht auf Guajak, wohl aber erhält man bei Zusatz von Ursol D mit Hefeperoxydase und Wasserstoffsuperoxyd Schwarzfärbung.

Der Versuch wird nach der Angabe von Grüß[67]) in folgender Weise ausgeführt:

Schwedisches Filtrierpapier (Munktellpapier) wird in Messingreifen von 20 cm Durchmesser eingespannt, wie das Drahtnetz bei einem Sieb. Auf das angespannte Filtrierpapier bringt man zunächst einen Wasserring, d. h. man feuchtet eine ringförmige Zone gleichmäßig an (durch Aufdrücken von angefeuchtetem, um eine Glasröhre gelegtem Filtrierpapier (Ber. Deutsch. Bot. Ges. 1908 Bd. XXVI a. S. 191). In der Mitte des Wasserrings wird die zu capillarisierende, zerriebene Masse aufgetragen. Damit kein vorzeitiges Eintrocknen stattfindet, muß die Capillarisation im dunstgesättigten Raume vor sich gehen, der auch mit Wasserstoff anzufüllen ist, um die oxydierenden Enzyme außer Funktion zu setzen. Nachdem die Capillarattraktionszone die gewünschte Ausdehnung erreicht hat und ihre Grenze markiert wurde, läßt man das Papier im Wasserstoffstrom trocknen. Alsdann zerschneidet man das Capillarisationsfeld in Sektoren, die man auf Filtrierpapier bringt, welches man mit den verschiedenen Reagenslösungen getränkt hat. Nach der Einwirkung fügt man die Sektoren zu dem Chromogramm wieder zusammen, auf welchem dann verschiedene Zonen wieder sichtbar geworden sind.

Auf diese Angaben, welche sich in den Publikationen von Grüß inmitten seiner Versuchsbeschreibungen zerstreut fanden, stützten wir unsere eigenen Versuche. Leider ist eine in Aussicht gestellte systematische Zusammenfassung bisher nicht erschienen, welche in klarer und genauer Weise den einzuschlagenden Weg vorschreibt, nach welchem in systematischer Weise etwa nach Art eines Analysengangs der Nachweis von Enzymen mittels der Capillarisationsmethode geliefert werden kann und auf die Schwierigkeiten, welche der Deutung entgegentreten, aufmerksam machen

68) Siehe 65. S. 557.

würde. Eine systematische Zusammenfassung der Capillaranalyse wird in den bisherigen Publikationen vermißt.

Der Zweck unserer Versuche war nur der, zu prüfen, ob bei Anwendung des von G r ü ß angegebenen Verfahrens an den vorliegenden Torulaarten überhaupt Reaktionen auftreten und welcher Art jene sind. Auf Streitfragen, wie sie von G r ü ß angeregt worden sind, sollte nicht eingegangen werden.

Zu der Versuchsanstellung sei folgendes bemerkt: Das eingespannte Filtrierpapier wurde durch Auflegen eines gut angefeuchteten, kreisrunden Filtrierpapieres von etwa 10 cm Durchmesser in der Mitte benetzt und die Ausdehnung des entstandenen feuchten Fleckes markiert. Auf dessen Mitte wurde dann die zu capillarisierende Substanz in dünner Schicht aufgetragen und zwar möglichst rasch, um Lufteinwirkung zu vermeiden. Die Messingreifen erhielten dann ihren Platz unter einer Glasglocke, die genügend Feuchtigkeit enthielt, was dadurch erreicht wurde, daß auf den Boden der Glocke eine Lage dicken, angefeuchteten Filtrierpapieres gelegt wurde. Dadurch wurde erreicht, daß das Filtrierpapier nicht so rasch austrocknete und die Capillarisation vor sich gehen konnte. Die Glasglocke war aus einer Bombe mit Reduzierventil mit Wasserstoff, der vorher eine Waschflasche mit Schwefelsäure passierte, gefüllt worden. Während des Trocknens des Filtrierpapiers wurde der entweichende Wasserstoff durch einen schwachen Strom des Gases ersetzt. Das trockene Papier wurde in mehrere Sektoren zerschnitten und diese mit den verschiedenen Reagentien in Petrischalen behandelt. Das Versuchsmaterial war teils auf Würze, teils auf schräg erstarrter Würzegelatine herangezüchtet. Aus den Kulturen in Nährflüssigkeit wurde die Zellenmasse entweder mit Hilfe einer Saugpumpe abgenutscht und mit destilliertem Wasser gut nachgewaschen, oder es wurde der größte Teil der Nährflüssigkeit abgegossen und der Bodensatz sowie die Oberflächenvegetation auf Gipsplatten abgesaugt.

Mit Rücksicht auf die Angaben von G r ü ß hinsichtlich der Beziehung zwischen dem physiologischen Zustande der

Zellen und den Enzymwirkungen kamen Kulturen verschiedenen Alters zur Verwendung.

Bevor wir an die Capillarisation zerriebener Zellen gingen, stellten wir auch Versuche mit unzerriebenen Zellen an analog denjenigen von Grüß[68]) mit obergäriger und untergäriger Bierhefe. Die dabei auftretenden Erscheinungen hat Grüß genau beschrieben und beziehen sich unsere Bemerkungen über das Ausbleiben einer Färbung an den Torula-Arten auf jene.

I. Versuche mit nicht zerriebenen Zellen.

1. Die von Flüssigkeit befreiten Zellenmassen der zu untersuchenden Torula-Arten wurden auf schwedisches Filtrierpapier gebracht, welches mit einer frisch bereiteten Guajakemulsion (eine Mischung von alkoholischer Guajaklösung mit Wasser) durchtränkt war. Die runden Filtrierpapierstücke wurden in Petrischalen gelegt.

Weder um die Zellenmassen herum, noch an den Massen selbst konnte eine Blaufärbung beobachtet werden.

2. Nachdem eine alkoholische Guajaklösung längere Zeit auf die Zellenmassen eingewirkt hatte, wurden diese zwischen Filtrierpapier abgepreßt und auf feuchtes Filtrierpapier gebracht.

Blaufärbung trat auch hier nicht auf.

3. In gleicher Weise ließ man Guajaklösung und verdünnte Wasserstoffsuperoxydlösung einwirken.

Blaufärbung trat ebenfalls nicht auf.

Grüß spricht anfangs nur allgemein von verdünnter Wasserstoffsuperoxydlösung, später (Zeitschr. für Pflanzenkrankheiten) macht er selbst auf den Unterschied des Farbenbildes aufmerksam, wenn einerseits eine sehr verdünnte, anderseits eine konzentrierte Lösung angewendet wurde. Infolgedessen wandten wir Wasserstoffsuperoxyd in verschiedener Konzentration an.

---

69) Siehe 60.

4. Die Torulazellen wurden mit Glyzerin behandelt, wodurch die Oxydase gelöst werden sollte. Nach Entfernung des Glyzerins trat weder mit Guajak allein, noch bei Gegenwart von Wasserstoffsuperoxyd eine Reaktion ein.

5. Filtrierpapier wurde mit der Tetralösung (siehe oben) gut durchtränkt und auf jenes eine kleine Probe der zu untersuchenden Zellenmassen möglichst rasch in dünner Schicht ausgebreitet.

Die Zellen blieben farblos, das Reagenspapier dagegen wurde allmählich schwach violett gefärbt. Die Bildung einer farblosen Zone um die Zellen konnte nicht beobachtet werden.

Der Kontrollversuch, mit der Tetralösung getränktes Filtrierpapier, färbte sich innerhalb des gleichen Zeitraums ebenfalls schwach violett.

6. Die Zellenmassen wurden gleichzeitig auf mit Tetra- und mit Tetrasodalösung getränktes Filtrierpapier gebracht.

Das Tetrapapier färbte sich wieder allmählich schwach violett, die Zellen blieben farblos, ein farbloser Rand um dieselben trat nach längerer Zeit nicht auf. Das Tetrasodapapier samt den Zellen blieb farblos.

II. Versuche mit zerriebenen Zellen.

Die von der Nährflüssigkeit befreiten Zellenmassen wurden mit Quarzsand und Kieselgur und nicht mit Glaspulver, wie Grüß angibt, zerrieben. Glaspulver eignet sich wegen seiner schwach alkalischen Reaktion weniger zu diesem Zweck. Beim Zerreiben mit Quarzsand erhält man eine schleimige, zähflüssige Masse. Durch Zusatz von Kieselgur[60]) erhält das Produkt eine plastische Beschaffenheit. Durch die mikroskopische Untersuchung wurde die Überzeugung gewonnen, daß der größte Teil der Zellen durch die Zerreibung geöffnet wurde.

Eine kleine Menge der zerriebenen Masse wurde mit einigen Tropfen destillierten Wassers gut gemischt und auf das zwischen den Messingreifen aufgespannte und angefeuch-

70) Buchner u. Hahn. Die Zymasegärung. München 1903. R. Oldenbourg S. 58.

tete Filtrierpapier aufgetragen. Im übrigen wurde wie oben angegeben verfahren. Sobald die Attraktionszone groß genug erschien, wurde der Versuch unterbrochen und das Filtrierpapier im trockenen Wasserstoffstrom gstrocknet. Mit den einzelnen Sektoren des zerschnittenen Papieres wurden folgende Versuche angestellt:

1. Ein trockener Kreisausschnitt wurde mit einer frisch bereiteten alkoholischen Guajaklösung getränkt. Nach Abdunsten des Alkohols wurde eine ebenso große Fläche Filtrierpapier mit Wasser befeuchtet und auf jene das zu untersuchende mit Guajak getränkte Papier gleichmäßig aufgedrückt. Zur Kontrolle diente ein nur mit alkoholischer Guajaklösung getränktes Filtrierpapier, welches im übrigen in der gleichen Weise wie beim Versuch behandelt wurde.

Weder bei der allmählich eintretenden Färbung des ganzen Papiers, noch bei der Färbung der Randzone konnte hinsichtlich des Grades der Färbung ein Unterschied zwischen Versuch und Kontrollversuch festgestellt werden. Die Färbung war in beiden Fällen zunächst hellblau, später gleichmäßig dunkelkblau.

Da möglicherweise die Konzentration der Guajaklösung eine Rolle bei der Reaktion spielen kann, so wurde der Versuch mehrmals unter Verwendung einer Guajaklösung verschiedener Konzentration wiederholt. Das Ergebnis blieb jedoch immer das gleiehe.

Der Versuch wurde auch zur Kontrolle mit Reinkulturen von ober- und untergäriger Bierhefe verschiedenen Alters angestellt, jedoch immer mit dem gleichen negativen Erfolg.

2. Wenn auch schon durch den Kontrollversuch erwiesen war, daß es sich bei der aufgetretenen Färbung nicht um Oxydasereaktion handeln konnte, so wurde doch noch ein Versuch in folgender Weise durchgeführt: da durch eine Behandlung der getrockneten Filtrierpapierausschnitte mit Alkohol die Sauerstoff übertragende Wirkung herabgesetzt wird, so wurde ein solches und ein Stück schwedischen Filtrierpapieres allein je eine Minute in siedendem Alkohol gehalten und zwar in gesonderten Gefäßen immer mit frischem

Alkohol. Nach dem Trocknen wurden beide Kreisausschnitte mit alkoholischer Guajaklösung getränkt. Sobald der Alkohol verdunstet war, wurden jene auf gleich große mit Wasser getränkte Stücke Filtrierpapier aufgedrückt. In beiden Fällen trat die gleiche Färbung auf.

3. Der Versuch unter Anwendung von Alkohol ohne Temperaturerhöhung ergab das gleiche Resultat.

4. Ein getrockneter Kreisausschnitt des Capillarisationsfeldes wurde auf Filtrierpapier aufgedrückt, das mit einer verdünnten wässerigen Tetralösung getränkt war. Die Lösung war frisch bereitet worden und färbte sich an der Luft nur ganz allmählich violett. Ein Kontrollversuch wurde mit Filtrierpapier allein durchgeführt. In beiden Fällen trat aber der gleiche Grad der Färbung auf. Das Ergebnis des Versuchs mit Tetrasodalösung bewegte sich in der gleichen Richtung.

Es gelang also nicht, mittels der Chromogramm-Methode von Grüß bei den vorliegenden acht Torula-Arten von verschiedenem Alter und mit Reagentien verschiedener Konzentration in der angegebenen Weise oxydasisch oder peroxydasisch wirkende Enzyme nachzuweisen. Worauf dieses negative Ergebnis zurückzuführen ist, vermögen wir vorläufig nicht zu sagen. Wenn wir auch kein abschließendes Urteil abzugeben vermögen, so steht doch nach dem Eindruck, welchen wir während der Versuchsanstellung gewannen, so viel für uns fest, daß die Capillarisationsmethode zum Nachweis von Enzymen an sich wenigstens für Hefe und andere Sproßpilze erst noch einer gründlichen systematischen Durcharbeitung bedarf, um sich Vertrauen zu erwerben und das Verfahren des Nachweises durch Reindarstellung (durch Fällen und dergl.) als überflüssig erscheinen zu lassen. Die Aufgabe zu lösen, würde uns von dem zunächst gesteckten Ziel, diagnostische Merkmale für unsere Torula-Arten zu gewinnen, zu weit abgeführt haben.

Grüß[71]) hat versucht, noch auf anderem Wege, als durch die Capillaranalyse Peroxydase nachzuweisen. Ob dabei tatsächlich die Wirkung einer Peroxydase in Frage

70) Ber. Deutsch. Bot. Ges. 1903 21 S. 356.

kommt, wie Grüß meint, soll hier nicht erörtert werden. Er gab Hefe in einen Zylinder, der mit einer Lösung des oxydierten, also violett gefärbten Tetramethylparaphenylendiaminchlorids gefüllt war. Über der Hefenschicht bildete sich bald eine Entfärbungszone aus, welche langsam nach oben vorrückte. Hier findet nach der Anschauung von Grüß durch die Peroxydase eine Reduktion statt. Nimmt man die entfärbte Flüssigkeitsschicht mittels einer Pipette heraus und setzt sie der Luft aus, so färbt sie sich durch Oxydation wieder violett.

Wir haben durch mehrere Versuche diese Erscheinung bestätigt gefunden.

M. Hahn[72 u. 73]) hatte früher mit Hefepreßsaft und Dauerhefe ähnliche Versuche unter Verwendung von Methylenblau angestellt. Unsere acht Torulaarten zeigten bei der Versuchsanstellung nach Grüß die gleichen, wie von diesem beobachteten Erscheinungen.

Die Versuchsanstellung war folgende: kleine Mengen von unzerriebenen Zellenmassen wurden in Reagensgläser gegeben und mit einer sehr verdünnten, an der Luft oxydierten Tetralösung überschichtet. Die Reagensgläser wurden möglichst vollständig mit der Flüssigkeit gefüllt und dann mittels eines Korks verschlossen. Bald bildet sich über den am Boden liegenden Zellenmassen eine langsam nach oben vorrückende Entfärbungszone. Je nach dem physiologischen Zustand der Zelle und der angewendeten Menge war die Reaktionsgeschwindigkeit verschieden. Nach 1—20 Stunden hatte sich die ganze Flüssigkeit entfärbt. Öffnete man nun die Reagensgläser, so wurde die Flüssigkeit durch den Luftsauerstoff wieder oxydiert, es entstand eine violette Zone, die langsam nach unten vorrückte, bis fast die ganze Flüssigkeitssäule wieder oxydiert war. Wurden hierauf die Reagensgläser wieder verschlossen, so fand von unten her wieder Ent-

---

72) Hahn M. Zur Kenntnis der reduzierenden Eigenschaften der Hefe. Die Zymasegärung von Buchner und Hahn M. München, R. Oldenbourg 1903 S. 341.

färbung statt u. s. f. Die Versuche wurden mit zerriebenen Zellenmassen mit dem gleichen Erfolg wiederholt.

Die Reaktion blieb aus, wenn die Zellenmassen zuvor in Wasser gekocht waren, ebenso bei Zellen, die durch Wasserstoffsuperoxyd katalytisch erschöpft waren.

Schon Will[73]) hat sämtliche von ihm untersuchte Torulaformen auf ihr Vermögen, Schwefelwasserstoff zu bilden, geprüft. Der Nachweis geschah derart, daß Streifen von Filtrierpapier, welche mit einer Lösung von essigsaurem Blei getränkt waren, in ein kurzes Reagensglas eingeführt und dieses über die Mündung des doppelt gebogenen Rohres eines Pasteurkolbens gestülpt wurde. Bei Verwendung einer Würze von 12—14 Grad Balling als Nährlösung war in keinem Falle Schwefelwasserstoffentwicklung zu beobachten. Nach Zusatz von pulverisiertem Schwefel zur Würze trat jedoch bei der Mehrzahl der Formen Schwefelwasserstoff auf. Alle, mit Ausnahme der Nr. 8, schwärzten das vorgelegte Bleipapier, wenn sie in einer mineralischen Nährlösung, welche jedoch keine Sulfate enthielt, nach Zusatz von 0,3 g pulverisiertem Schwefel zu 100 ccm Flüssigkeit gezüchtet wurden.

Grüß hat zum Nachweis von Hydrogenase, welche bei Gegenwart von Schwefel Hydrosulfid bildet, auch die Capillarisationsmethode benutzt. Er verfuhr dabei in der Weise, daß er nach Herstellung des Capillarisationsfeldes dieses mit Schwelfelbumen bestäubte und es dann mit Bleizuckerpapier, das auf einer Glasplatte haftete, in 1 mm Entfernung zum Auffangen des Schwefelwasserstoffs bedeckte[73a]).

In Anlehnung an diese Versuchsanordnung wurden auch die vorliegenden 8 Torulaformen geprüft. Das Capillarisationsfeld wurde auf Scheiben schwedischen Filtrierpapiers von 15 cm Durchmesser hervorgerufen, welche sich in Petrischalen befanden.

---

73) Zentralblatt Bakt. II. 1906 17 S. 707 und Zeitschrift ges. Brauw. 1906 29 S. 73.

73 a) Berichte d. Deutschen Bot. Ges. 1908 26.a. S. 195.

Um das Austrocknen des Papiers zu verhindern, wurde an einer Stelle des Filtrierpapierrandes eine kleine Menge angefeuchteter steriler Watte gelegt und dann die Schale mit einem gut schließenden Glasdeckel geschlossen.

In einer ersten Versuchsreihe war das Capillarisationsfeld mit zerriebenen Zellenmassen hergestellt worden, die verwendeten Torulaarten waren verschieden alt und in der gleichen Weise wie bei den früheren Versuchen vorbereitet worden. Der Versuch wurde während 21 Tagen beobachtet. In keinem Fall zeigte das Bleipapier eine irgendwie erkennbare Schwefelwasserstoffreaktion.

In einer zweiten Versuchsreihe, welche im übrigen in der gleichen Weise durchgeführt wurde, kamen nicht zerriebene Zellenmassen und zwar in größerer Menge zur Verwendung, die auf die angefeuchtete Filtrierpapierscheibe in dünner gleichmäßiger Schicht aufgetragen wurden. Jene entstammten Kulturen verschiedenen Alters, die in gehopfter Bierwürze herangewachsen waren. Alle Torulaarten, ausgenommen Nr. 8, bewirkten unter diesen Versuchsbedingungen teilweise innerhalb sehr kurzer Zeit (6—8 Stunden) eine deutliche, über die ganze Fläche des Bleipapiers ausgedehnte Schwarzfärbung.

Eine zufriedenstellende Erklärung dieses Unterschiedes in den beiden Versuchsreihen ist schwer zu geben. Möglicherweise ist sie darin zu suchen, daß die bei der Capillarisationsmethode angewendete Zellenmenge zu gering war. Dem steht aber entgegen, daß nach den Versuchen von Grüß selbst sehr geringe Mengen der Enzyme eine Reaktion hervorzurufen vermögen.

VI. Färbung und Entfärbung.

Farbstoffbildende Bakterien und Sproßpilze sind schon in größerer Zahl bekannt[74]). Die Eigenschaft, Farbstoffe zu bilden, ist ein sehr charakterstisches und infolgedessen für die Unterscheidung der Arten brauchbares Material.

74) Lafar, Fr. Technische Mykologie 1 S. 125.

Auch Will[75]) konnte bei einigen Torula-Arten Entfärbung, aber auch Zufärbung verschiedener Nährlösungen feststellen. Eine weitgehende Entfärbung von Bierwürze hat er bei einer Mycodermaart (Mycoderma decolorans Will[76]) beobachtet. Die Pseudomonilia-Arten von Geiger entfärbten dagegen Bierwürze nur schwach.

Schon bei den vorhergehenden Versuchen mit den vorliegenden Organismen war wiederholt das Auftreten von verschiedenen Farbstoffen beobachtet worden. Dachs[77]) kam bezüglich der von ihm untersuchten Torula-Arten der ersten Gruppe zu folgendem Ergebnis: Alle untersuchten Torulaarten bilden in verschiedenen Nährlösungen Farbstoffe und zwar auch solche Arten, bei welchen bisher diese Eigenschaft nicht bekannt war. Die Farbstoffe gehen häufig in die Nährlösung über und rufen hier auch Fluoreszenzerscheinungen hervor. Seltener haftet der Farbstoff an den Zellen.

Helles Licht hemmt die Farbstoffbildung oder verlangsamt sie bedeutend; am intensivsten ist die Farbstoffbildung im Dunklen. Fluoreszenzerscheinungen treten bei Einwirkung von direktem Licht in den Kulturen nicht auf.

Meist zeigen sich gelbe bis gelbgrüne und orangegelbe Farbstoffe. Bei einer Art werden die Riesenkolonien rosarot.

Im folgenden sind die Beobachtungen über Farbstoffbildung und Farbezerstörung an den Kulturen der bisher durchgeführten Versuche zusammengestellt.

A. Versuche, betreffend das Verhalten gegenüber verschiedenen Zuckerarten.

Alter der Kulturen 10 Wochen.

Torula 7, 9, 2, 15. Farbstoffbildung oder Farbezerstörung konnte nicht beobachtet werden.

Torula 8. In Dextrose-Hefewasser Absatz gelb gefärbt. Nährflüssigkeit schwach entfärbt. In Galak-

75) III. Mitteilg. S. 137.

76) Zeitschrift für das gesamte Brauwesen 1900 Bd. 23 S. 185.

77) Dissertation S. 66.

tosehefewasser sind die Absätze hellgelb gefärbt. Das Saccharosehefewasser war bei Abschluß des Versuchs zitronengelb, das Maltosehefewasser orangegelb gefärbt.

Torula 1. Laevulose- und Maltosehefewasser schwach gelb, Galaktose-Hefewasser zitronengelb gefärbt.

B. Verhalten gegen Aethylalkohol.

Alter der Kulturen 4 Wochen.

Torula 7. Hefewasser ohne und mit Zusatz von 1 und 2 % Alkohol wird stark entfärbt. Peptonlösung allein wird nicht, mit 2, 3 und 6 % Alkohol stark, mit 4 % Alkohol schwach entfärbt.

Torula 8. Hefewasser ohne und mit Zusatz von 1—4 % Alkohol dunkelgelb, Rand im oberen Teil bräunlich gefärbt. Peptonlösung allein wird nicht, mit 1 und 2 % Alkohol dunkelgelb gefärbt.

Torula 1. Hefewasser ohne und mit Zusatz von 1—4 % Alkohol schwach entfärbt, Peptonlösung mit und ohne Alkoholzusatz wird nicht verändert.

Torula 9. Hefewasser bleibt unverändert. Peptonlösung ohne und mit Zusatz von 1—3 % Alkohol wird schwach entfärbt.

Torula 10. Hefewasser wird nicht, Peptonlösung allein schwach entfärbt.

Torula 2. Hefewasser und Peptonlösung werden während der Versuchsdauer nicht verändert.

Torula 15. Hefewasser und Peptonlösung allein werden nicht verändert, Peptonlösung mit 1—10 % Alkohol wird je nach der Entwicklung schwach bis stark entfärbt.

Torula 16. Hefewasser und Peptonlösung ohne Alkoholzusatz werden nicht, mitAlkoholzusatz schwach entfärbt.

In den alkoholhältigen (4,84 Gewichtsprozent) Hefewasserkulturen, die zur Feststellung der Alkoholabnahme angelegt wurden, zeigte sich nach 190 Tagen folgendes Bild: die Absätze von Torula 7 waren zitronengelb, die von den übrigen Torulaarten lederbraun gefärbt, der Rand ist bei Torula 9 und 15 gelb, die Flüssigkeit bei Torula 8 dunkler, bei den übrigen Arten heller als in den Kontrollkulturen gefärbt.

Bei der Färbung des Randes ist zu berücksichtigen, daß, so weit zu übersehen, fast regelmäßig in sehr alten Kulturen, auch in solchen von Saccharomyceten, an jenem eine Gelbfärbung erscheint. Diese hängt sehr wahrscheinlich mit dem Auftreten von Fettropfen an den hungernden und zerfallenden Hefezellen zusammen. Sie tritt um so deutlicher hervor, je trockener die Randbildung ist. Die an dem Rand sich bemerkbar machende Art von Färbung, welche eine Alterserscheinung ist, muß jedenfalls von der an jungen Kulturen in den Zellen und hauptsächlich von der in der Nährlösung auftretenden unterschieden werden.

C. Versuche betreffend das Verhalten gegen organische Säuren.

Alter der Kulturen 180 Tage.

Torula 7. Hat die Peptonlösung mit Weinsäurezusatz schwach orange gefärbt.

Torula 8. Peptonlösung ohne Säurezusatz und mit Zitronensäure tief kaffeebraun gefärbt (Farbentiefe 16). Die Farbentiefe der ursprünglichen Peptonlösung betrug 2,8, bestimmt mit dem Brand'schen Kolorimeter. Rand und Absätze kaffeebraun. In den Kulturen mit Bernsteinsäurezusatz ist die Nährlösung braun (Farbentiefe 14) gefärbt, ebenso der Rand, Absatz etwas heller. Nährlösung, Rand und Absätze in den Kuturen mit Äpfelsäurezusatz sind tief dunkel braun gefärbt (Farbentiefe 17).

In den Kulturen mit Weinsäurezusatz sind Hautinseln, Ring und Rand braun, Flüssigkeit orangegefärbt. (Farbentiefe 2,9).

Torula 1. Hatte in Peptonlösung mit und ohne Säurezusatz keinerlei Farbstoff gebildet.

Torula 9. Peptonlösung allein wird nicht verändert, mit Zusatz von Ameisensäure schwach dunkler gefärbt; in den Kulturen mit Essigsäure und Milchsäure sind Haut, Rand und Absatz gelb, die Nährflüssigkeit dunkler gefärbt. (Farbentiefe 3,6).

Torula 10. Peptonlösung mit Zusatz von Zitronensäure wird gelb gefärbt, ebenso die Haut und der Absatz. Peptonlösung allein und mit Zusatz der übrigen Säuren wird nicht verändert.

Torula 2. Peptonlösung allein und mit Zusatz der meisten Säuren wird nicht verändert, in den Kulturen mit Milchsäure und Bernsteinsäure werden der Rand, die Haut und der Absatz gelb gefärbt.

Torula 15. Die Kulturen zeigen keine Färbung.

Torula 16. Peptonlösung allein wird wenig entfärbt; die Nährlösung der Kulturen mit Ameisensäure und Äpfelsäure wird schwach orange gefärbt. In den Kulturen mit Milchsäure wird die Haut, der Rand und der Absatz gelb, die Nährlösung dunkler gefärbt (Farbentiefe 3,8). In den Kulturen mit Bernsteinsäure wird die Haut und der Absatz gelb, die Nährlösung dunkler gefärbt (Farbentiefe 3,6).

D. Versuche betreffend das Wachstum auf möglichst stickstoffreiem Nährboden.

Alter der Kulturen 4 Monate.

Auf nahezu stickstoffreiem Saccharose-Agar, sowie in der absolut stickstoffreien Nährlösung Ia von der früher angegebenen Zusammensetzung trat entsprechend der relativ schwachen Entwicklung keinerlei Farbstoffbildung auf.

Zur Kontrolle und zum Vergleich des Wachstums waren auch Kulturen in Saccharose-Peptonlösung und Riesenkolonien auf Saccharose-Pepton-Agar angelegt worden. In und auf diesen stickstoffhaltigen Nährböden war die Entwicklung naturgemäß viel kräftiger, als in und auf den Nährböden ohne Stickstoffquelle. Infolgedessen war Farbstoffbildung der Kulturen selbst, wie auch in der Nährlösung und im Substrat häufig.

Farbstoffbildung in stickstoffhaltiger Saccharose-Pepton-Lösung.

Torula 7, 11 und 17 hatten die Nährlösung stark entfärbt, die ursprünglich malagaweinrote Färbung war in eine zitronengelbe übergegangen.

Torula 8. Hatte die Nährlösung stark dunkler, fast schwarz gefärbt (Farbentiefe 15), Rand im oberen Teil braunschwarz, Absatz schokoladebraun gefärbt.

Farbstoffbildung der Riesenkolonien auf Saccharose-Pepton-Agar.

Torula 7. Kulturen und Substrat hell kaffeebraun gefärbt.

Torula 8. Kulturen und Substrat dunkelbraun, fast schwarz.

Torula 1. Kulturen elfenbeinfarben.

Torula 9. Kulturen hellbräunlich, Substrat tief lederbraun.

Torula 10. Kulturen hell bräunlich.

Torula 2. Kulturen hell schmutzigbraun.
Torula 15. Kulturen hell braun.
Torula 16. Kulturen hell gelbbraun.
Torula 17. Kulturen schmutzig gelbbraun.
Torula 11. Kulturen matt schmutzigbraun.

Dachs[78]) hat für die von ihm untersuchten Torulaarten der ersten Gruppe festgestellt, daß das Licht hemmend auf die Farbstoffbildung einwirkt. Deshalb sollten die in den früheren Versuchsreihen gemachten Beobachtungen nach der Richtung hin erweitert werden, daß durch einen systematischen Versuch die Einwirkung und die Entziehung des Lichts auf die Farbstoffbildung studiert wurden.

Die in flüssigen, wie auch auf festen Nährböden angelegten Kulturen erhielten ihren Platz teils in der Nähe des Fensters, teils in einem Schrank, in welchem Lichtzutritt völlig ausgeschlossen war. Im übrigen waren die Bedingungen möglichst gleichmäßig. Der Versuch wurde nach 6 Monaten abgebrochen.

Zur Verwendung kamen folgende Nährflüssigkeiten bezw. feste Nährböden:

1a Peptonzuckerwasser mit 6 % Saccharose.
1b Peptonzuckergelatine, wie 1a mit Zusatz von 10 % Gelatine.
2a Hefezuckerwasser mit 6 % Saccharose.
2b Hefezuckerwassergelatine mit 6 % Saccharose und 10 % Gelatine.
3 Würzegelatine.

Für die Riesenkolonien wurden 30 ccm Erlenmeyerkölbchen, für die Flüssigkeitskulturen 200 ccm Pasteurkolben verwendet. Das Impfmaterial war aus den gleichen Gründen, wie früher angegeben, verschieden alt und auf schräg erstarrter Würzegelatine herangewachsen. Vor der Aussaat wurde durch mikroskopische Kontrolle die Reinheit der Kulturen und der Zustand der Zellen festgestellt. Wie bei den

78) Ber. d. Deutsch. Bot. Ges. 1908 26a S. 195

anderen Versuchen wurden Parallelkulturen, sowie Kontrollkulturen unter den gleichen Bedingungen aufgestellt und periodisch beobachtet. Die Beobachtungen über Farbstoffbildung in Peptonzuckerwasser und Hefezuckerwasser im Dunkeln und im Licht sind in der Tabelle Nr. 12 zusammengefaßt.

Die Vermehrung in Peptonzuckerwasser war bei allen Organismen eine relativ gute, jedoch schwächer wie in Hefezuckerwasser. Die Färbungen waren zwar durchwegs deutlich, aber nie besonders stark, etwas stärker waren sie, entsprechend dem besseren Wachstum, in Hefezuckerwasser.

Die Farben an sich waren im allgemeinen in beiden Nährlösungen nicht verschieden, nur hinsichtlich der Nuance bestanden geringe Unterschiede.

Die von den Organismen erzeugten Färbungen waren bei Torula 7 und 8 der ersten Gruppe: gelb in der Nährlösung, braungelb bis lederbraun im Absatz. Bemerkenswert ist, daß Torula 8, die auf Peptonsaccharose-Agar und in der säurehaltigen Peptonlösung sehr starke Farbstoffbildung (dunkelbraun bis schwarz) zeigte, in Peptonzuckerwasser und Hefezuckerwasser trotz der längeren Versuchsdauer keine kräftigen Farbentöne hervorbrachte, als die anderen Organismen. In der zweiten Gruppe sind die Arten 9 und 16 durch die rosa- bis ziegelrote Färbung des Randes ausgezeichnet.

Die Riesenkolonien auf Peptonzuckergelatine, Hefezuckerwassergelatine und Würzegelatine hatten mit Ausnahme der Torula 8 keinerlei Farbstoff, weder im Dunkeln, noch im Licht gebildet. Torula 8 hatte im Dunkeln auf Peptonzuckergelatine eine rotbraune bis lederbraune Färbung angenommen, auf Hefezuckerwassergelatine zeigten sich außerdem noch schwarzbraune Flecken von etwa 6 mm Durchmesser.

Tabelle No. 12.

Färbung und Entfärbung.

I. Im Dunkeln:

No.	Peptonzuckerwasser	Hefezuckerwasser
7	Absatz hell lederbraun	Absatz hell lederbraun Flüssigkeit zitronengelb
8	Absatz hell lederbraun Flüssigkeit dunkler gefärbt	Absatz lederbraun Flüssigkeit malagaweinrot
1	Rand zitronengelb mit rotbraunen Punkten	Absatz braungelb
9	Absatz hell gelbbraun Rand ziegelrot	Absatz gelbbraun Rand ziegelrot
10	Absatz rosabraun Rand zitronengelb	Absatz rosabraun Rand zitronengelb
2	Flüssigkeit orangegelb Rand gelblich weiß	Flüssigkeit orangegelb Rand schwach gelb
15	Absatz rötlich braun	Flüssigkeit hell gelbbraun
16	Rand schwach ziegelrot	Rand schwach ziegelrot stärker wie in Peptonzuckerwasser

II. Im Licht:

No.	Peptonzuckerwasser	Hefezuckerwasser
7	Flüssigkeit hellgelb Absatz hell lederbraun	Flüssigkeit hellgelb Absatz hell lederbraun
8	Flüssigkeit gelb Absatz lederbraun	Flüssigkeit gelb Absatz lederbraun Rand mit gelben Punkten
1	Rand deutlich zitronengelb mit braunen Punkten Absatz hell lederbraun	Flüssigkeit gelb Absatz lederbraun Rand zitronengelb
9	Absatz lederbraunrot Rand rosarot	Absatz schwach ziegelrot Rand rosarot
10	Flüssigkeit zitronengelb	Flüssigkeit zitronengelb Absatz chamois Rand zitronengelb
2	Flüssigkeit orangegelb	Flüssigkeit hellgelb Rand schwach zitronengelb
15	Flüssigkeit orangegelb	—
16	Rand schwach rosarot	Rand schwach rosarot

Im Gegensatz zu den von Dachs untersuchten Arten der ersten Gruppe traten bei den vorliegenden Organismen weder ein grüner Farbstoff, noch Fluorezenzerscheinungen auf.

Die schon von Dachs erwähnte ungünstige Beeinflussung der Farbstoffbildung durch das Licht fand sich bei unseren Versuchen bestätigt. Eine vollständige Unterdrückung der Farbstoffbildung fand zwar, wie bei den Torula-Arten der ersten Gruppe, auch bei denjenigen der zweiten Gruppe nicht statt, jedoch waren die Farben bei den im Dunkeln gewachsenen Kulturen kräftiger, als bei den im Licht gewachsenen.

Gegenüber den von Geiger[79]) beschriebenen Pseudomonilia-Arten, die nur in sehr geringem Maße Farbstoffe hervorbringen und den von Leberle beschriebenen Mycodermaformen sind die Torula-Arten der ersten und zweiten Gruppe durch die Fähigkeit relativ starker Farbstoffbildung ausgezeichnet.

Die durch die vorliegenden Organismen veranlaßten Entfärbungen sind nur gering.

Für die Entstehung der Farbstoffe scheint nach den vorliegenden Beobachtungen an den untersuchten Torulaarten neben anderen die Gegenwart bestimmter Stickstoffquellen eine unerläßliche Bedingung zu sein. Wenigstens waren Färbungen nur an den Kulturen mit stickstoffhaltigen Nährböden beobachtet worden, während sie an stickstoffreien nicht auftraten.

Zusammenfassung der hauptsächlichsten Untersuchungsergebnisse.

1. Bei Gärversuchen in größerem Maßstab und von längerer Dauer vergoren alle 8 Torula-Arten die verwendeten Zucker: Dextrose, Laevulose, Galaktose, Saccharose, Maltose und Milchzucker, wenn auch die gebildete Alkoholmenge in einzelnen Fällen nur sehr gering war; immerhin konnte Alkohol mit Sicherheit nachgewiesen werden. Bei Anwendung der Kleingärmethode wurde im Einklang mit den Ver-

79) a. a. O. S. 135.

suchsergebnissen Wills Milchzucker von allen Organismen nicht in Alkohol und Kohlensäure gespalten, Dextrose, Laevulose, Galaktose, Saccharose und Maltose dagegen nur von Nr. 7 und 8 nicht vergoren, während Raffinose und Arabinose schon bei der Kleingärmethode teilweise starke Vergärung zeigten.

Die Verschiedenheit zwischen den Ergebnissen der Kleingärmethode und der Versuche im großen erklärt sich daraus, daß das Gärvermögen bei einzelnen Organismen sehr schwach ist; infolgedessen treten äußerlich sichtbare Gärungserscheinungen bei der Kleingärmethode während der kurzen Versuchsdauer, während welcher eine wesentliche Vermehrung der Zellen nicht eintritt, nicht mehr in die Erscheinung.

2. Bei der alkoholischen Gärung wird von allen Organismen in verschiedenem Grade Säure gebildet.

3. Alkoholzusatz zur Nährlösung wirkt in bestimmten Mengen hemmend auf die Entwicklung der Organismen ein. Die Grenzwerte für die Entwicklungshemmung stimmen bei Verwendung von Hefewasser und Peptonlösung vollständig überein, beim Reinhefebier liegen sie viel höher.

Die Grenzwerte für die Entwicklungshemmung sind bei den Arten der ersten Gruppe im allgemeinen niedriger, als bei denjenigen der zweiten Gruppe. Die Arten Nr. 7 und 8 sind innerhalb ihrer Gruppe (I) am wenigsten gegen Alkohol empfindlich. Die Art Nr. 15 der II. Gruppe ist gegen Alkohol sehr widerstandsfähig.

Die Grenzwerte für die Abtötung der Organismen durch Alkohol stimmen wieder bei Hefewasser und Peptonlösung vollständig überein. Sie liegen teilweise wesentlich höher als die Grenzwerte für die Entwicklungshemmung.

4. Die Torulaceen sind nicht nur Alkoholbildner, sondern auch Alkoholverzehrer. Die Arten der zweiten Gruppe verzehren mehr Alkohol als diejenigen der ersten.

Parallel der Alkoholverzehrung geht Säurebildung einher. Die gefundenen Werte für die Säurebildung sind annähernd proportional den Werten für die Alkoholverzehrung. Die

Alkoholabnahme und die Säurebildung steht mit der Entwicklung einer Oberflächenvegetation in Zusammenhang.

5. Die Grenzwerte für die Entwicklungshemmung durch organische Säuren (Ameisensäure, Essigsäure, Milchsäure, Bernsteinsäure, Äpfelsäure, Weinsäure und Zitronensäure) sind für die zweite Gruppe durchschnittlich höher als für die erste Gruppe, bei welcher nur Nr. 5 ähnlich wie Torula 15 der zweiten Gruppe, eine Ausnahme macht.

Ordnet man die Säuren nach den Grenzzahlen, so ergibt sich für die der ersten Gruppe der Torulaceen angehörenden Arten 7 und 8 folgende Reihe: Essigsäure, Weinsäure, Ameisensäure, Milchsäure, Äpfelsäure, Zitronensäure und Bernsteinsäure; die Reihenfolge ist also im wesentlichen die gleiche, wie für die von Dachs untersuchten Arten der ersten Gruppe. Für die der zweiten Gruppe der Torulaceen angehörenden Arten ist die Reihenfolge dieselbe wie für die der ersten Gruppe, nur steht hier die Zitronen- vor der Äpfelsäure. Eine Ausnahme macht Torula 15; hier steht die Ameisensäure vor der Weinsäure, im übrigen stimmt die Reihenfolge mit derjenigen der zweiten Gruppe überein.

Die Organismen der zweiten Gruppe entwickeln sich in der gesättigten Lösung der Bernsteinsäure noch sehr gut.

6. Die untersuchten Organismen sind nicht nur Säurebildner, sondern auch Säureverzehrer; die Assimilierung ist verschieden, durchschnittlich ziemlich groß. Die der ersten Gruppe angehörenden Arten Nr. 7 und 8 haben im allgemeinen weniger Säure, als die der zweiten Gruppe verzehrt.

7. Sämtliche untersuchten Torula-Arten, sowohl die Arten 17, 11, 7 und 8 der ersten Gruppe, wie auch die Arten 1, 9, 10, 2, 15 und 16 der zweiten Gruppe vermehrten sich in und auf nahezu stickstoffreien Nährböden; die Vermehrung ist jedoch weniger lebhaft als auf stickstoffhaltigen Nährböden.

8. Die Gegenwart von Maltase oder Glukase und Laktase in den vorliegenden Torulaarten kann als bewiesen gelten. Hydrogenase ist in allen Arten, mit Ausnahme von Nummer 8,

vorhanden. Die Verflüssigung von Gelatine beweist die Gegenwart von Eiweiß lösenden Enzymen.

Es gelang nicht, mittels der Chromogramm-Methode nach G r ü ß oxydasisch oder peroxydasisch wirkende Enzyme nachzuweisen. Dagegen hat die Entfärbung der oxydierten Tetramethylparaphenylendiaminchlorhydratlösung die Gegenwart von Peroxydase (nach G r ü ß) geoffenbart.

9. Gegenüber den von G e i g e r beschriebenen Pseudomonilia-Arten und den von L e b e r l e beschriebenen Mycodermaformen sind die Torulaceen der ersten und zweiten Gruppe durch die Fähigkeit relativ starker Farbstoffbildung ausgezeichnet. Meist zeigen sich gelbe bis gelbgrüne und orangegelbe, zuweilen auch lederbraune bis dunkelbraune Farbstoffe. Manche Arten entfärben die Nährlösung mehr oder minder, andere färben sie dunkler.

Die Gegenwart bestimmter Stickstoffquellen in der Nährlösung scheint in einzelnen Fällen für die Farbstoffbildung unerläßlich zu sein.

10. Das Licht wirkt hemmend auf die Bildung der Farbstoffe ein oder unterdrückt diese vollständig.

11. Aus allen Untersuchungen haben sich wertvolle Richtpunkte für die Unterscheidung der Torulaceen gegenüber anderen Gruppen von Sproßpilzen ohne Sporenbildung, sowie für die Unterscheidung der beiden Untergruppen der Torulaceen ergeben. Nur hinsichtlich der Säureverzehrung bestehen die durchgreifenden Unterschiede, welche im übrigen zwischen den Arten der ersten und zweiten Gruppe sich ergaben, nicht.

Tabelle 2.

Beobachtungen über äußere

No.	Zeit	Dextrose	Laevulose	Galaktose
7	3 Tg.	Nährflüssigkeit schwach getrübt, geringer Absatz. Keine Haut	Trübung schwächer, Bodensatz besser entwickelt wie bei Dextrose etwa den halben Boden bedeckend. Keine Haut	Die Entwicklung ist schwächer wie bei Dextrose und Laevulose. Trübung und Absatz schwächer wie bei Dextrose und Laevulose. Keine Haut
8	3 Tg.	Geringe Trübung und schwacher, farbloser Absatz. Beginnende Ringbildung: schleimig weiß-farblos Zahlreiche, sehr kleine schleimige Hautinseln	Mäßige Trübung, Absatz stärker wie bei Dextrose, bedeckt etwa ⅔ des Bodens. Beginnende Ringbildung. Inselchen wie bei Dextrose	Wie bei Laevulose, aber etwas schwächer entwickelt
1	3 Tg.	Flüssigkeit ist fast klar, Absatz gut entwickelt, schwache Ringbildung. Zahlreiche weißliche glasige Hautinseln, einige schon zu Boden gefallen	Mäßige Trübung, geschlossener, weißlicher schleimiger Ring, sonst wie bei Dextrose.	Flüssigkeit getrübt. Ringbildung. Hautinseln etwas weniger zahlreich wie bei Laevulose
9	3 Tg.	Schaumbildung, schwache Trübung, mäßiger Absatz. Zahlreiche weißliche, kreidige Inselchen bedecken etwa die halbe Flüssigkeitsoberfläche. Ein kleiner Teil ist schon zu Boden gefallen	Flüssigkeit schwächer getrübt als bei Dextrose. Die Inselchen sind weniger zahlreich als bei Dextrose, aber etwa 2—3mal so groß. Sie sind kettenförmig aneinander gereiht u. haben entsprechend ihrer Größe kompaktere Ansätze, nur ganz wenige sind zu Boden gefallen	Schwache Trübung, wenig Bodensatz, geringe Ringbildung. Eine grau-weiße, schleimige Haut aus zahlreichen, noch leicht erkennbaren Inselchen bestehend, bedeckt ⅔ der Flüssigkeitsoberfläche
10	3 Tg.	Flüssigkeit schwach getrübt, relativ starker Bodensatz. Auf der Flüssigkeitsoberfläche nur sehr wenige, ganz kleine, punktförmige Hautinseln	Flüssigkeit klar. Bodensatz gleichmäßiger und schwächer wie bei Dextrose. Keine Haut	Flüssigkeit getrübt. Absatz etwa wie bei Dextrose. Beginnende Ring- und Inselbildung

Erscheinungen an den Kulturen.

Saccharose	Maltose	Milchzucker
Absatz mäßig, etwa wie bei Laevulose, einzelne Ansätze zu Ringbildung. Nährflüssigkeit wenig getrübt. Spuren von Haut	Geringe Trübung. Absatz etwa so stark wie bei Galaktose. Keine Haut	Flüssigkeit klar, Absatz geringer wie bei den übrigen Zuckerarten. Keine Haut
Flüssigkeit klar, Absatz gering; schwacher, noch nicht ganz geschlossener Ring. Vereinzelte, schleimig - graue Hautinseln	Flüssigkeit schwach getrübt. Absatz stärker wie bei Dextrose. Schwacher Ring wie bei Saccharose. Noch keine Hautbildung	Flüssigkeit klar, Einsaatmaterial am Boden nur wenig verändert. Kein Ring. Sehr geringe Entwicklung, nur wenig Hautinseln
Schwache Trübung, beginnende Ringbildung, wenige, ganz kleine, weiße, kreidige Hautinseln	Trübung schwach, Absatz gering, beginnende Ringbildung rein weiß, schleimig. Zahlreiche grauweiße, schleimige Inselchen, viel größer, wie bei den übrigen Zuckerarten	Flüssigkeit klar, Absatz noch geringer wie bei Maltose. Nur wenige Hautinseln, kleiner wie bei Maltose
Flüssigkeit klar, beginnende Ringbildung. Vereinzelte, ganz kleine, punktförmige, schleimig-weiße Inselchen sind auf der Flüssigkeitsoberfläche verstreut, etwa eben so viele liegen am Boden	Flüssigkeit klar, Absatz sehr gering. Erbsengroße, grau schleimige Inselchen bedecken fast die ganze Flüssigkeitsoberfläche. Die Zwischenräume sind mit viel kleineren, kompakteren, weißlich kreidigen Inselchen ausgefüllt	Schwache Trübung, geringer Absatz. Vereinzelte, grauschleimige Hautinseln verschiedener Größe auf der Flüssigkeitsoberfläche
Flüssigkeit fast ganz klar. Gleichmäßiger, weißer Absatz, an den Rändern aufgestülpt. Flüssigkeitsoberfläche hautfrei	Flüssigkeit trübe, ziemlich starker, mehlig-pulveriger Niederschlag. Flüssigkeitsoberfläche hautfrei	Flüssigkeit klar, geringer Absatz, keine Haut

Tabelle 2.

No.	Zeit	Dextrose	Laevulose	Galaktose
2	3 Tg.	Flüssigkeit klar, geringe Schaumbildung. Absatz mäßig. Sehr zahlreiche weißliche, schleimige Hautinselchen, die Flüssigkeitsoberfläche fast vollständig bedeckend	Wie bei Dextrose. Haut beginnt zu Boden zu fallen	Schwache Trübung, minimaler Bodensatz. Fast geschlossene, farblose, schwach marmorierte Haut; die einzelnen Hautinselchen sind noch mehr oder weniger deutlich erkennbar
15	3 Tg.	Flüssigkeit getrübt. Absatz gering. Rand zirka 5 mm hoch; grob gefaltete, weißliche glasige Haut über die ganze Oberfläche	Fein gekröseartig gefaltete trockene starke Haut von gelblich weißer Färbung, sonst wie bei Dextrose	Flüssigkeit getrübt, kein Absatz. Beginnende Randbildung. Ganz schwache, geschlossene, marmorierte Haut. Haut und Flüssigkeit rötlich gefärbt
16	3 Tg.	Flüssigkeit schwach getrübt. Geringe Ringbildung. Haut nahezu geschlossen, besteht aus zahlreichen kleinen, ziemlich scharf begrenzten weißlichen Inselchen von anscheinend schleimiger Beschaffenheit. Viele Hautinselchen zu Boden gefallen	Im allgemeinen wie bei Dextrose, jedoch Haut noch schwächer, Inselchen kleiner und farblos. Sehr viele Hautinselchen zu Boden gefallen	Haut noch weniger entwickelt als bei Laevulose. Sehr zahlreiche Hefeninselchen am Boden. Sonst wie bei Laevulose
7	10 Tg.	Flüssigkeit schwach getrübt. In der einen Kultur fast geschlossene Haut, grau bis weiß, schleimig, in der anderen liegt der größte Teil der Haut in großen, aufgerollten Fetzen am Boden	Flüssigkeit fast klar. Schwacher, gleichmäßig abgelagerter Absatz. Geschlossener, grau-weißer, schleimiger Ring. Keine Haut	Flüssigkeit klar. Schwacher, zusammenhängender Absatz, am Rand umgekrempt. Beginnende Ringbildung. Keine Haut

Saccharose	Maltose	Milchzucker
Wie bei Galaktose, geringe Ringbildung	Nur wenig weiter entwickelt	Geringe Trübung, mäßiger Absatz, aus abgefallenen Hautinselchen bestehend. Zahlreiche farblose, schleimige Hautinselchen bedecken etwa die halbe Flüssigkeitsoberfläche. Einzelne Inselchen fallen zu Boden
Die Entwicklung ist analog, aber schwächer als bei Dextrose	Wie bei Galaktose, jedoch Haut gleichmäßiger. Rotfärbung	Wie bei Galaktose, jedoch Haut dünner
Geringe Trübung. Viele kleine, weißliche Inselchen von schleimiger Beschaffenheit. Viele davon sind schon zu Boden gesunken	Flüssigkeit schwach getrübt. Bodensatz ziemlich beträchtlich, weil viele Hautinselchen zu Boden gefallen. Hautbildung wie bei Laevulose	Geringe Trübung, schwacher Absatz. Hautbildung analog, aber stärker wie bei den übrigen Zuckerarten
Absatz bedeckt gleichmäßig den ganzen Boden schwache Ringbildung, Haut ist jetzt geschlossen	Flüssigkeit fast klar; Absatz mäßig, gleichmäßig abgelagert und an den Rändern umgekrempt. Beginnende Ringbildung; vereinzeilte, grau-weiße schleimige Hautinselchen	Flüssigkeit schwach getrübt, sehr geringe Entwicklung

Tabelle 2.

No.	Zeit	Dextrose	Laevulose	Galaktose
8	10 Tg.	Flüssigkeit klar. Auf der Flüssigkeitsoberfläche nur noch wenige, kettenförmig zusammenhängende Hautinselchen, die meisten liegen in großen Fetzen am Boden	Beide Kulturen verschieden stark entwickelt. In der einen Kultur Randbildung zirka 5 mm hoch, starke, geschlossene, grau-glasige, gefaltete Haut, in der anderen Kultur beginnende Randbildung und Hautschleier	Absatz stärker wie bei Dextrose. Schleimiger Ring. Zahlreiche graue, schleimige Inselchen auf der Flüssigkeitsoberfläche, einzelne sehr stark vom dichten Kern aus entwickelt
1	Tage 10	Ring geschlossen. Haut ganz in großen Fetzen zu Boden gefallen	Analog, aber schwächer wie bei Dextrose entwickelt	Flüssigkeit klar, geringe Hautteile am Boden. Haut ganz geschlossen, die einzelnen Inselchen nicht mehr unterscheidbar
9	10	Es kommt nicht zur Bildung einer geschlossenen Haut, weil die rein weiß kreidigen Inselchen zum größten Teil wieder zu Boden fallen	Form und äußere Beschaffenheit der Inselchen wie bei Dextrose, bedecken jetzt etwa $^4/_5$ der ganzen Flüssigkeitsoberfläche	Bodensatz stärker geworden, Ring geschlossen. Die Haut ist jetzt nahezu geschlossen
10	10	Der Bodensatz hat sich vermehrt, weniger dagegen die sehr kleinen, schleimig grauen punktförmigen Inselchen	Flüssigkeitsoberfläche immer noch hautfrei, im übrigen wie bei Dextrose	Flüssigkeit klar, Absatz gering. Die Hautinseln mattgrau, sind jetzt sehr groß. Durchmesser 50—60 mm
2	10	Absatz beträchtlich, Inselchen kreidigweiß, teilweise schleimig, zum größten Teil schon zu Boden gefallen	Geringe Trübung. Inselchen fast alle zu Boden gefallen	Schwache Trübung, mäßiger Absatz. Haut geschlossen, teils weißlich, schleimig, teils grau, glasig
15	10	Flüssigkeit klar, Bodensatz wächst etwas an der Wand empor. Die oben beschriebene, sehr starke Haut zeigt an der Unterseite nierenförmige, kompakte Ansätze	Kulturen zeigen dasselbe äußere Bild wie die in Dextrosehefewasser, nur etwas schwächer ausgeprägt	Absatz gering, Rand fast geschlossen. Die marmorierte Haut ist bedeutend stärker geworden

Saccharose	Maltose	Milchzucker
Flüssigkeit klar, beginnende Randbildung. Haut fast ganz geschlossen	Schwache Trübung, beginnende Ringbildung. Einzelne Hautinseln	Flüssigkeit klar, Absatz gering, Haut bedeckt jetzt fast die ganze Flüssigkeitsoberfläche
Ring geschlossen. Hautinseln wenig vermehrt	Flüssigkeit klar, Ring geschlossen, Haut fast ganz am Boden	Flüssigkeit klar, Absatz mäßig. Haut ist jetzt geschlossen und teilweise schon am Boden
Die Kulturen sind wenig weiter entwickelt	Die Haut ist jetzt ganz geschlossen, man kann aber ihr Zustandekommen aus großen Inseln von 7—9 mm Durchmesser noch erkennen	Flüssigkeit schwach getrübt. Bodensatz bedeutend stärker geworden. Haut noch nicht geschlossen
Flüssigkeit schwach getrübt. Absatz mäßig. Es bilden sich jetzt einzelne große Hautinseln, ähnlich denen in Galaktosehefewasser	Absatz stärker wie bei Dextrose. Die eine Kultur zeigt jetzt einen geschlossenen Hautschleier, in der anderen Kultur einzelne Hautinseln	Hoher, zirka 15—20 mm, aber sehr unregelmäßiger Rand. Haut ist jetzt ganz geschlossen
Schwache Trübung und schwacher Bodensatz. Ring noch immer nicht ganz geschlossen. Haut größtenteils zu Boden gefallen	Starke Trübung, mäßiger Absatz. Die kreidig weißen Hautinselchen sind fast alle zu Boden gefallen	Flüssigkeit klar, mäßiger Absatz. Die oben beschriebenen Hautinseln bedecken jetzt die ganze Flüssigkeitsoberfläche
Analoge, aber schwächere Entwicklung wie bei Dextrosehefewasser	Absatz stärker wie bei Galaktose. Haut nicht mehr geschlossen	Schwache Trübung, Absatz gering. Haut grob gefaltet, schwächer wie bei Dextrose

Tabelle 2.

No.	Tage	Dextrose	Laevulose	Galaktose
16	10	Absatz beträchtlich, Ring geschlossen. Die Haut ist jetzt ganz geschlossen, die einzelnen Hautinseln kaum mehr unterscheidbar	Flüssigkeit fast klar, Absatz mäßig. Haut geschlossen, etwas schwächer wie bei Dextrose	Haut ist jetzt ganz geschlossen, Fetzen und teilweise kompakte Stücke hängen nach unten
7	Woch. 3	Flüssigkeit klar, beginnende Ringbildung. Auf der Flüssigkeitsoberfläche nur noch einzelne, zusammenhängende Hautinseln, der größte Teil der Haut liegt in großen, zusammenhängenden Fetzen am Boden, die sich teilweise aufgerollt haben	Flüssigkeit klar, Absatz gleichmäßig feinsandig. Der weiße, schleimige Ring hängt in guirlandenförmigen Bogen nach unten. Nur in der Nähe der Gefäßwand einzelne graue schleimige Inseln mit dichterem Kern	Flüssigkeit klar, Absatz wächst etwa 4 bis 5 mm an der Wand empor. Ring noch nicht geschlossen. Keine Haut. Die ganze Entwicklung ist sehr schwach
8	3	Starke Trübung, starker Absatz, keine geschlossene Haut	Flüssigkeit fast klar. Neu gebildete, geschlossene, mattgraue Haut. Alte Haut am Boden	Beginnende Randbildung. Geschlossene, sekundäre Haut, sonst wie oben
1	3	Flüssigkeit klar, Absatz mäßig. Einzelne, neu gebildete Hautinseln	Flüssigkeit klar, Absatz mäßig, gelb. Rand ungleichmäßig, zirka 4—5 mm hoch, Flüssigkeitsoberfläche nahezu hautfrei	Sehr starke Haut, nach Aussehen und Konsistenz wie Rahm
9	3	Bodensatz wenig vermehrt, schwache Ringbildung. Haut ist fast ganz geschlossen, die einzelnen Inselchen sind aber noch sehr gut erkennbar	Beginnende Ringbildung. Haut ganz geschlossen, besteht aus zwei deutlich unterscheidbaren Teilen: aus den oben beschriebenen Inselchen von 2—4 mm Durchmesser und aus einer mattgrau-weißen, die Zwischenräume ausfüllenden Haut	Sehr starker Absatz. Randbildung zirka 2 bis 3 mm. Die oben beschriebenen Hautinseln bilden, selbst noch deutlich unterscheidbar, eine geschlossene Haut
10	3	Geringe Trübung, beträchtlich. Bodensatz. Rand 3—4 mm. Hautinseln wenig vermehrt	Trübung wie bei Dextrose. Beginnende Randbildung, sonst wenig verändert	Schwache Trübung, Ringbildung

Saccharose	Maltose	Milchzucker
Schwache Trübung, mäßiger Absatz. Beginnende Ringbildung. Schwache Entwicklung, die Inselchen fallen ab, bevor Haut geschlossen	Geringe Trübung, Absatz beträchtlich. Haut ist stärker geworden, aber immer noch nicht ganz geschlossen	Flüssigkeit fast klar, starker Absatz. Haut ist in großen Fetzen ganz zu Boden gefallen
Haut fast ganz am Boden, an der Gefäßwand sind einzelne große Fetzen hängen geblieben	Schwache Trübung, Absatz wächst etwas an der Wand empor. Ring noch nicht geschlossen. Die einzelnen Hautinseln fallen etwa in dem Maß, wie sie gebildet werden, zu Boden	Nur der Absatz hat sich etwas weiter entwickelt
Schwache Trübung, mäßiger Absatz. Rand zirka 3—4 mm. Haut in beiden Kulturen geschlossen	Schwache Trübung, mäßiger Absatz. Beginnende Randbildung; Ring geschlossen, Haut nicht ganz geschlossen	Starke Trübung, mäßiger Absatz. Rand unten stark verdickt, noch lückenhaft. Haut ist jetzt geschlossen
Flüssigkeit schwach getrübt, Randbildung 4 bis 5 mm, farblos glasig. Haut nicht geschlossen	Die äußeren Erscheinungen sind dieselben wie bei Laevulose, nur der Absatz ist stärker und besteht zum größten Teil aus abgefallenen Hautfetzen	Haut nicht mehr geschlossen, sonst wie oben
Kulturen wenig weiter entwickelt. Schwacher, zirka 3 mm hoher Rand	Sehr starker Bodensatz, aus abgefallenen Hautfetzen bestehend. Schwache Ringbildung. Haut nicht mehr geschlossen	Wenig weiter entwickelt Am schwächsten von allen Versuchskolben
Schwache Trübung, Rand zirka 2 mm	Starke Trübung. Schwacher Rand	Schwache Trübung. Haut nicht mehr geschlossen

Tabelle 2.

No.	Woch.	Dextrose	Laevulose	Galaktose
2	3	Schwache Ringbildung, Haut zum größten Teil am Boden, nur wenige, kreidige Inselchen der alten Haut, viele vorläufig mattgraue Inselchen, von einer zweiten Hautgeneration herrührend	Wie bei Dextrose	Flüssigkeit klar, sehr starker Absatz. Haut groß marmoriert. Teile davon fallen bei der geringsten Erschütterung zu Boden, ergänzen sich aber bald wieder, daher Marmorierung
15	3	Starker unregelmäßiger Rand bis zu 15 mm hoch. Haut ungemein stark, am stärksten von allen Kulturen entwickelt, im Gegensatz zu Laevulose grob gefaltet, trockener wie früher, anscheinend von ziemlich fester Konsistenz	Flüssigkeit trüb, starke Absätze. Rand schwächer wie bei Dextrose. Haut etwas schwächer wie bei Dextrose, feiner gefaltet	Flüssigkeit trüb, ziemlich starker Absatz, Rand geschlossen. Haut farblos, nicht ganz geschlossen, fällt sehr leicht zu Boden
16	3	Flüssigkeit klar, starker Absatz. Beide Kulturen ungleich: auf der einen dicke, fast geschlossene, marmorierte Haut, rahmartig weißlich, in der anderen Kultur ist sie fast ganz zu Boden gesunken	Flüssigkeit fast klar, beträchtlicher Absatz, Hautbildung nach Aussehen und Beschaffenheit ähnlich wie bei Dextrose, nur ungleichmäßiger entwickelt	Starke Absätze. Ein Teil der Haut ist zu Boden gefallen. Allgemeiner Charakter wie bei Dextrose
7	6	Flüssigkeit klar, Rand rein weiß, zirka 4 mm hoch. Flüssigkeitsoberfläche nahezu hautfrei, die ganze Haut liegt in großen, gekröseartig gewundenen Fetzen am Boden	Der Rand ist zu 4/5 zu Boden gefallen. Flüssigkeitsoberfläche ganz hautfrei. Die Haut liegt als gelblichweiße, zusammenhängende Masse am Boden. Ganze Entwicklung etwas schwächer wie bei Dextrose	Flüssigkeit klar, Gefäßboden gleichmäßig bedeckt mit gelblichweißem, zusammenhängendem Bodensatz, am Rand umgekrempt. Schwache Ringbildung, keine Haut
8	6	Flüssigkeit stark getrübt, bedeutender Absaz, weißlich, feinflockig, Rand rein weiß 5—6 mm. Auf der Flüssigkeitsoberfläche nur mehr geringe Hautteile	In dem jetzigen Stadium kein wesentlicher Unterschied gegenüber den Kulturen in Dextrosehefewasser	Starke Trübung und starker Absatz, weiß, gleichmäßig. Rand weiß, 4—5 mm. Sekundäre Haut größtenteils abgefallen

Saccharose	Maltose	Milchzucker
Geringe Trübung, mäßiger Bodensatz. Schwache Randbildung, Haut hat sich wieder ergänzt	Flüssigkeit klar, starker Absatz. Haut geschlossen, matt glänzend, weißlich glasig, anscheinend von festerer Konsistenz	Ziemlich starker Absatz. Auf der Flüssigkeitsoberfläche der einen Kultur zahlreiche, mattweiße Hautinselchen
Rand sehr stark, 4 bis 5 mm hoch. Haut nicht mehr geschlossen	Flüssigkeit klar, starker Absatz. Haut marmoriert, da die zu Boden gefallenen Teile ergänzt sind, in den älteren Partien weißlich, zirka 15 mm an der Gefäßwand emporwachsend	Geringe Trübung, starker Bodensatz. Die farblose Haut ist in der einen Kultur geschlossen, in der anderen teilweise zu Boden gesunken, an der Wandung wächst sie bis zu 5 mm empor
Trübung und Absatz mäßig. Ring und Haut noch nicht geschlossen. Im ganzen schwache Entwicklung	Haut zum größten Teil am Boden, ohne daß es zu einer geschlossenen Decke kam. Sonstiger allgemeiner Charakter wie bei Dextrose	Ziemlich starker Bodensatz. Die eine Kultur hautfrei, auf der andern weiße Inselchen. Die Entwicklung, die zuerst den anderen Kulturen voraus war, ist jetzt zurückgeblieben
Schwache Trübung, mäßiger Absatz. Unregelmäßiger Rand. Eine neue Hautgeneration ist im Entstehen	Kulturen gleichen nach Form und äußerer Beschaffenheit denen in Galaktosehefewasser	Flüssigkeit klar, ganz schwacher, feinmehliger Niederschlag. Schleimiger, grau-weißer Ring 2—3 mm hoch. Keine Haut
Flüssigkeit klar, kleinflockiger Absatz, Rand zirka 4 mm. Haut nicht mehr geschlossen	Schwache Trübung, mäßiger Absatz. Rand rein weiß, 4—5 mm. Haut nicht vollständig geschlossen	Mäßige Trübung, starker Bodensatz. Rand, desgleichen Haut, geschlossen. Parallelkultur ist in der Entwicklung zurück

Tabelle 2.

No.	Woch.	Dextrose	Laevulose	Galaktose
1	6	Rand zirka 3 mm. Die oben beschriebenen Hautinseln bedecken in der einen Kultur fast die ganze Flüssigkeitsoberfläche, in der anderen nur dieHälfte	Entwicklung analog wie bei Dextrose	Rand zirka 3 mm. Haut beginnt zu Boden zu fallen
9	6	Rand 4—5 mm. In der einen Kultur sehr starker, grobflockiger Absatz; mattgraue, geschlossene Haut. In der anderen Kultur Haut fast ganz am Boden	Flüssigkeit fast klar. Unregelmäßiger, 2 bis 3 mm hoher Rand. Haut nicht mehr geschlossen	Flüssigkeit klar, flockiger Absatz. Geschlossene, gleichmäßige Haut
10	6	Schwache Trübung, starker Absatz, Rand 5—6 mm. Keine geschlossene Haut	Rand geschlossen, aber unregelmäßig ausgebildet, sonst unverändert	Rand unregelmäßig, 2—3 mm. Haut geschlossen, aus Inseln verschiedener Generationen zusammengesetzt
2	6	Schwache Trübung. Rand 3—4 mm. Neue Hautgeneration bedeckt die ganze Flüssigkeitsoberfläche	Wie bei Dextrose	Rand 2—3 mm. Haut ergänzt sich immer wieder
15	6	Rand bis zu 20 mm. Haut noch stärker geworden	Entwicklung analog, aber schwächer wie bei Dextrose	Kulturen nach Form und äußerer Beschaffenheit unverändert. Geringe Gesamtentwicklung
16	6	Starker Absatz, Rand 2—3 mm. Beide Kulturen haben sich in der Entwicklung genähert geschlossene, schwach marmorierteHaut verschiedenen Alters	Kulturen nach Form und äußerer Beschaffenheit nicht wesentlich verschieden von denen in Dextrosehefewasser	Haut regeneriert sich immer wieder und ist jetzt fast ganz geschlossen

Saccharose	Maltose	Milchzucker
Trübung und Bodensatz gering. Rand etwa 5 mm. Die neue Generation der Hautinseln fällt auch zu Boden, bevor eine geschlossene Decke gebildet ist	Rand zirka 3—4 mm, Haut nicht geschlossen, sonst wie oben	Schwache Trübung; neue geschlossene, schwache Haut
Geringe Weiterentwicklung des Randes. Haut geschlossen. Einzelne Inselchen noch unterscheidbar, ebenso das verschiedene Alter derselben. Ältere kreidigweiß, jüngere mattgrau, schleimig	Geschlossene mattgraue Haut, flockiger Absatz	Flüssigkeit deutlich rotbraun gefärbt, klar. Schwacher, feinkörniger Niederschlag; weder Ring, noch Rand. Ganz wenige, schleimige, graue, unregelmäßige Hautinseln
Absatz gering. Rand unregelmäßig, etwas stärker wie bei Galaktose. Flüssigkeitsoberfläche hautfrei	Gleichmäßiger Rand, 4 bis 5 mm hoch, grauweiß, schleimig. Auf der Flüssigkeitsoberfläche nur mehr geringe Hautteile	Flüssigkeit klar, geringer, feinmehilger Absatz. Flüssigkeitsoberfläche hautfrei
Ring und Haut geschlossen, schwacher Rand, sonst wie nach 3 Wochen	Flüssigkeit ganz klar, Absatz beträchtlich. Rand 3—4 mm. Haut ganz geschlossen, zirka 3 mm dick	In den letzten 3 Wochen wenig weiter entwickelt
Rand unregelmäßig bis zu 20 mm hoch. Haut ist jetzt gleichmäßiger, und zeigt trichterförmige Vertiefungen	Haut geschlossen. Rand wie bei Saccharose	Äußeres Bild wie oben. Geringe Weiterentwicklung
Relativ starker, kleinflockiger Absatz. Haut mattgrau, geschlossen	Rand unregelmäßig bis zu 20 mm. Feine, geschlossene neue Haut.	Wie oben: Geringe Weiterentwicklung

Tabelle 2.

No.	Woch.	Dextrose	Laevulose	Galaktose
7	10	Starke Trübung und starker gelb-weißer Absatz. Der schleimig gallertartige Rand ist zirka 5—6 mm hoch. Der starke, unregelmäßige Absatz ist ebenfalls gallertartig, aber nicht fadenziehend. Auf der Flüssigkeitsoberfläche sehr viele neue, kompakte, jedoch nicht scharf begrenzte Inselchen	Geringe Trübung. Der Rand, gelb-weiß, gallertartig, liegt zum größten Teil als Ganzes am Boden. Flüssigkeitsoberfläche ganz hautfrei. Die Haut liegt als gelblich-weiße zusammenhängende, schleimige Masse am Boden. Die Entwicklung ist analog, aber etwas schwächer wie bei Dextrose	Flüssigkeit klar. Gefäßboden gleichmäßig bedeckt mit gelblich-schleimigem, zusammenhängendem Absatz, am Rand aufgekrempt. Schwache Ringbildung, kein Rand. Keine Haut
8	10	Nährflüssigkeit entfärbt und schwach getrübt. Absatz sehr stark, locker, feinflockig, gelb, nicht hautartig. Starker Ring und Rand, schleimig, an einzelnen Stellen deutlich zitronengelb gefärbt. Starke, jedoch nicht lückenlose, schleimige, gleichmäßige Haut	Sehr starke Absätze, teils locker, teils hautartig. In beiden Kulturen ziemlich starke Ringbildung. Die eine Kultur nahezu ohne Haut, in der anderen mäßige Hautbildung, nicht zusammenhängend	Flüssigkeit klar, sehr starke, hellgelbe Absätze, locker, nicht hautartig. Ziemlich starker Ring, breite Randbildung. Ganz dünne, schleimige, grau-weiße Haut
1	10	Schwache Trübung, Flüssigkeit kaum gefärbt. Starke, weiße, lockere, flockige Absätze, ziemlich starker Ring. Auf der Flüssigkeitsoberfläche teils Hautfetzen, teils kleine Inseln	Flüssigkeit getrübt und schwach gelb gefärbt. Starke grobflockige Absätze, weiß. Ziemlich starke Ringbildung. Haut zeigt große Lücken, weiß, schleimig	Flüssigkeit schwach getrübt, zitronengelb gefärbt; sehr starke, lockere, flockige Absätze, starker, weißer Ring, schwacher Rand. Farblose Haut mit zahlreichen kleinen Lücken
9	10	Flüssigkeit fast klar, sehr starke, lockere, grobflockige, teils hautartige, weißliche Absätze. Ziemlich starker, weißer Ring, Mäßige, grau-weiße, schleimige Haut, ungleichmäßig	Flüssigkeit klar, starke gelbweiße Absätze, locker, grobflockig. Geringer, weißer Ring. Schwache Haut, zum größten Teil zu Boden gefallen	Flüssigkeit fast klar. Sehr starke, lockere, grobflockige Absätze, weißlich. Mäßiger Ring. Schwache, farblose, neue Haut

Saccharose	Maltose	Milchzucker
Flüssigkeit fast klar. Starke Absätze, bestehend aus nicht zusammenhängenden, abgefallenen, schleimigen Hautfetzen. Starker gelb-weißer, schleimiger Ring. Auf der Flüssigkeitsoberfläche noch einige, größere zusammenhängende, schleimige teilweise aufgerollte Hautteile	Die Kulturen sind nach Form und äußerer Beschaffenheit nicht wesentlich verschieden von denen in Galaktosehefewasser	Flüssigkeit klar. Ganz schwacher, gleichmäßiger, grau schleimiger Absatz. Ring 2 bis 3 mm dick, grau schleimig. Kein Rand. Keine Haut
Nährflüssigkeit schwach zitronengelb gefärbt, getrübt. Ziemlich starke Absätze, locker liegend, nicht hautartig. Rand mäßig, bis zu 5 mm hoch Haut grau, schleimig, nicht ganz geschlossen	Nährflüssigkeit schwach orangegelb gefärbt und getrübt. Absatz mäßig und ziemlich locker. Ziemlich starke Ringbildung, Rand etwa 10 mm hoch. Geringe, neue, graue, glasige Hautbildung an der Gefäßwand	Starke Trübung, Absätze teils locker, teils hautartig. Schwacher grauer, zirka 8 mm hoher Rand. Überreste von gallertartiger, grauer Haut
Flüssigkeit klar, keine Gelbfärbung, mäßiger, grobflockiger Absatz, mäßige Ring- und Randbildung. Schwache, weiße Haut mit vielen Lücken	Schwache Trübung und Gelbfärbung, sehr starke, lockere, flockige Absätze, farbloser, starker Ring. Schwache Haut.	Flüssigkeit klar. Starke, grobflockige Absätze, geringe Ringbildung, schwache, weißliche Haut
Flüssigkeit fast klar, mäßige, feinflockige, weißliche Absätze, mäßiger, weißer Ring, schwacher Rand, ungleichmäßige Haut.	Flüssigkeit fast klar, starke, grobflockige, gelblich-weiße Absätze, mäßiger Ring. Mäßige, mattgraue, ungleichmäßige Haut, zum Teil am Boden	Flüssigkeit klar, sehr geringe Absätze. Am Gefäßboden haben sich einige gut entwickelte Riesenkolonien gebildet. Flüssigkeitsoberfläche hautfrei

Tabelle 2.

No.	Woch.	Dextrose	Laevulose	Galaktose
10	10	Flüssigkeit getrübt, mäßige, grau-weiße, lockere Absätze. Mäßiger Ring und Rand, weiß. Ganz schwache Haut	Wie bei Dextrose	Flüssigkeit getrübt, zitronengelb gefärbt. Starke, lockere Absätze. Schwacher weißer Ring und Rand. Schwache, ungleichmäßige Haut mit einigen Lücken
2	10	Flüssigkeit klar. Weiße, sehr starke, locker liegende, feinflockige Absätze. Mäßiger Ring und Rand. Schwache, farblose Haut	Flüssigkeit klar, sehr starke, feinflockige Absätze, mäßigerRing und Rand. Schwache, farblos-weißliche Haut	Flüssigkeit fast klar. Starke, feinflockige, lockere Absätze. Ziemlich starker Ring, schwacher Rand. Schwache Haut
15	10	Flüssigkeit schwach getrübt. Sehr starke, lockere Absätze, fast ganz aus abgefallenen Hautteilen bestehend. Starker, weißer Ring. Rand weiß, 15 mm. Schwache, ungleichmäßige, neue Haut, farblos, an dickeren Stellen weißlich	Flüssigkeit schwach getrübt. Starke, lockereAbsätze aus Hautteilen. Dicker, weißer Ring. Rand 15 mm. Mattweiße, gekröseartig gefaltete Haut, stark, in der einen Kultur teilweise abgefallen	Mäßige, weißliche, lockere Absätze. Schwacher Ring und Rand. Mäßige, neue, schleimige, farblose, Haut
16	10	Flüssigkeit klar. Mäßige, lockere Absätze, grau-weiß. Weißer Ring und Rand. Mäßige Haut, teils farblos, teils kreideweiß	Flüssigkeit schwach getrübt. Sehr starke lockere, grau-weiße Absätze. Geringe, farblose Haut, an älteren Stellen weiß.	Schwache Trübung. Starke, grobflockige Absätze. Mäßiger weißerRing. Schwache ungleichmäßig ausgebildete, schleimige Haut, zum größten Teil farblos, im übrigen weißlich gefärbt

Saccharose	Maltose	Milchzucker
Flüssigkeit fast klar, mäßige, lockere Absätze. Mäßiger weißlicher Ring. Keine Haut.	Flüssigkeit getrübt, starke, weiße, lockere Absätze, geringer, bis mäßiger Ring, rein weiß. Keine Haut	Flüssigkeit klar. Geringe, rein weiße Absätze. Sehr schwacher, nicht ganz geschlossener Ring. Keine Haut
Sehr starke feinflockige Absätze. Schwacher Ring und Rand. Ziemlich starke Haut, teils weiß, teils farblos	Sehr starke Absätze, mäßiger Ring und Rand. Mäßige Haut, an den jüngeren Stellen farblos, an den älteren weißlich schleimig	Flüssigkeit klar, schwache Absätze, geringe Ringbildung; keine Haut
Flüssigkeit stark getrübt. Starke, lockere Absätze aus abgefallenen Hautteilen. Ziemlich starker Ring und Rand. Starke, ungleichmäßige, schleimige Haut, farblos, an den dickeren Partien weißlich schleimig	Flüssigkeit klar; sehr starke, weiße, lockere Absätze. Mäßiger Ring und Rand, weißlich schleimig. Schwache, neue farblose, schleimige Haut	Starke Trübung; starke, lockere, flockige Absätze, kein Ring, sehr schwacher Rand. Schwache, schleimige, farblose Haut
Flüssigkeit fast klar. Starke Absätze, mäßiger weißer Ring. Dünne, größtenteils farblose Haut, an den dickeren Stellen weißlich	Starke Trübung. Sehr starke, lockere, grobflockige, weißliche Absätze. Mäßiger, weißer Ring und Rand. Schwache, ungleichmäßig ausgebildete, farblose, schleimige Haut, an einzelnen Stellen weißlich	Flüssigkeit klar. Mäßige, farblos-weiße, grobflockige Absätze. Kein Ring und Rand. Keine Haut

Tabelle 7a.

Wachstumserscheinungen in

No.	Versuch	Nach 1 Tage	Nach 4 Tagen
7	Blinder Versuch	Farbe der Nährflüssigkeit unverändert. Feiner, geschlossener Absatz	Nährflüssigkeit schwach entfärbt
	1 %	Feiner, noch nicht geschlossener Absatz, Nährflüssigkeit schwach entfärbt. Schwache Grünfärbung	Absatz bedeckt jetzt gleichmäßig den ganzen Boden.
	2 %	Absatz stärker, wie bei 1 %. Färbung der Flüssigkeit wie bei 1 %	Die Entwicklung ist besser wie bei 1 %
	3 %	Entwicklung etwas kräftiger wie bei 2 %	Wie oben
	4 %	Keine äußerlich sichtbare Entwicklung	Wie oben
	5 %	—	—
	6 %	—	—
	7 %	—	—
	8 %	—	—
	9 %	—	—
	10 %	—	—

Hefewasser mit Alkohol-Zusatz.

Nach 14 Tagen	Nach 28 Tagen
Geringe Trübung und Entfärbung	Bodensatz gut entwickelt, zeigt dichtere Kolonien und gleichmäßige Ablagerung. Starke Entfärbung
Äußere Wachstumserscheinungen sind schwächer als beim blinden Versuch	Entfärbung ist ebenso stark wie beim blinden Versuch, die übrige Entwicklung ist wenig schwächer
Entwicklung etwa eben so stark wie beim blinden Versuch	Die Kulturen zeigen jetzt etwas stärkere Entwicklung wie bei 1 %
Wie oben	Optimum der äußeren Entwicklung, besser wie bei 1 % und 2 %, aber etwas schwächer, wie beim blinden Versuch. Nur Bodensatz, gleichmäßig abgelagert. Keine Haut
Wie oben	Äußere Entwicklung etwa wie bei 2 %
—	Schwächer entwickelt wie bei 4 %. Absatz bedeckt nur etwa ¼ der Bodenfläche
—	Entwicklung wenig schwächer wie bei 5 %
—	Ab 7 % keine äußerlich sichtbare Entwicklung
—	—
—	—
—	—

Tabelle 7a.

No.	Versuch	Nach 1 Tage	Nach 4 Tagen
8	Blinder Versuch	Absatz bedeckt den ganzen Boden, beginnende Hautbildung, geringe Entfärbung	Flüssigkeit getrübt. Absatz gut weiter entwickelt. Geschlossene Haut
	1 %	Haut, Absatz und Farbe wie beim blinden Versuch	Starke Trübung. Rand zirka 4 mm. Haut geschlossen
	2 %	Entfärbung wie beim blinden Versuch. EinzelneHautinselchen	Schwache Trübung. Rand zirka 2 mm. Haut geschlossen
	3 %	Wie bei 2 %	Schwache Trübung. Rand und Haut nicht ganz geschlossen
	4 %	Farbe wie beim blinden Versuch. Keine Haut	Schwache Trübung. Absatz und Hautbildung gering
	5 %	Vorläufig keine äußerlich sichtbare Entwicklung	—
	6 %	—	—
	7 %	—	—
	8 %	—	—
	9 %	—	—
	10 %	—	—

Nach 14 Tagen	Nach 28 Tagen
Randbildung zirka 5 mm. Haut neugebildet und geschlossen	Mäßiger Bodensatz, gleichmäßig abgelagert. Rand im oberen Teil bräunlich gefärbt
Wie beim blinden Versuch	Schwache Hautbildung, Flüssigkeit in der einen Kultur getrübt. Mäßiger, gleichmäßig abgelagerter Bodensatz
Rand wenig weiter entwickelt. Neue, geschlossene Haut	Flüssigkeit stark dunkelgelb gefärbt. Bodensatz zeigt bräunliche Färbung
Wie bei 2 %	Schwache Haut, die nicht zu Boden sinkt. Flüssigkeit klar, mäßige, gleichmäßig abgelagerte Absätze. Absatz und Flüssigkeit wie bei 2 % gefärbt. Einzelne Kristalle
Schwächer entwickelt wie bei 3 %	Flüssigkeit und Absatz wie bei 2 % gefärbt. Belag an der Kölbchenwand. Keine Haut
Kulturen kaum weiter entwickelt	Nur der Absatz hat sich etwas weiter entwickelt
—	Wie bei 3 %
—	Ab 7 % ist äußerlich keine Entwicklung mehr sichtbar
—	—
—	—
—	—

Tabelle 7a.

No.	Versuch	Nach 1 Tage	Nach 4 Tagen
1	Blinder Versuch	Starker Absatz. Farbe der Nährlösung heller geworden. Geringe Hautbildung	Geringe Trübung. Feine, aber hohe Randbildung (zirka 6 mm). Haut noch nicht geschlossen
	1 %	Wie beim blinden Versuch	Schwache Randbildung. Sonst wie beim blinden Versuch
	2 %	Geringe Entfärbung, starker Absatz, Spuren von Hautbildung	Flüssigkeit getrübt, starke Randbildung (4—5 mm). Hautinseln etwas vermehrt
	3 %	Wie bei 2 %, aber keine Haut	Geringe Trübung, sehr starker Absatz, stärker wie bei 1, 2 und 4 %. Rand zirka 3—4 mm. Einige wenige Hautinselchen
	4 %	Wie bei 2 %	Geringe Trübung. Randbildung zirka 3 mm. Spuren von Haut
	5 %	Einsaatmaterial äußerlich nicht verändert	Geringe Trübung und beginnende Ringbildung
	6 %	—	Beginnende Ringbildung
	7 %	—	—
	8 %	—	—
	9 %	—	—
	10 %	—	—

Nach 14 Tagen	Nach 28 Tagen
Schwache Entfärbung. Haut geschlossen, geringer Fortschritt in der Entwicklung	Oberfläche des Bodenbelags in beiden Kulturen nach dem Entwicklungsgrad verschieden. In der einen mehr oder weniger glatt, in der anderen uneben
Stärker entwickelt wie der blinde Versuch	Absatz gleichmäßig, stärker wie bei den folgenden Kulturen. Rand nicht höher, aber bedeutend stärker wie beim blinden Versuch
Etwas stärker entwickelt, wie bei 1%	Trübung schwach, Rand viel stärker wie bei 1 %. Haut nicht mehr geschlossen.
Haut geschlossen, sonst wie oben	Wie bei 2 %
Analog, aber schwächer entwickelt, wie bei 3 %	Trübung, Entfärbung und Rand etwa eben so stark wie bei 1 %
Ring geschlossen. Beginnende Randbildung. Entwicklung schwächer wie bei 4 %	Mäßiger, gleichmäßig abgelagerter Bodensatz. Rand zirka 4—5 mm. Einzelne Hautinseln
Beginnende Randbildung	Bodensatz und Rand wie bei 5 %
Wie bei 6 %	Mäßiger, grobflockiger Absatz. Rand zirka 3 mm. Keine Haut
Beginnende Ringbildung	Kulturen verschieden entwickelt. In der einen mäßiger Bodensatz, geringe Ringbildung, vereinzelte Hautinseln, in der anderen geringer Bodensatz, kein Ring
—	In der einen Kultur mäßige Entwicklung am Boden und schwache Ringbildung
—	Entwicklung äußerlich nicht erkennbar Nach 14 Tagen

Tabelle 7a.

No.	Versuch	Nach 1 Tage	Nach 4 Tagen
9	Blinder Versuch	Starker, flockiger Bodensatz, viele Hautinseln, grau-weiß, matt, zirka 5—7 mm Durchmesser	Beträchtlicher, weißer, grobflockiger Bodensatz. Ringbildung
	1 %	Flüssigkeit klar. Bodensatz viel geringer wie beim blinden Versuch. Einzelne Hautinseln	Bodensatz weiß, grobflockig, wenig stärker wie beim blinden Versuch
	2 %	Bodensatz schwächer wie bei 1 %. Einzelne Hautinseln.	Flüssigkeit wenig getrübt. Ring- und Randbildung. Haut geschlossen
	3 %	Bodensatz etwas stärker wie bei 2 %. Haut nicht ganz so stark wie beim blinden Versuch	Geringe Trübung. Geschlossene Haut
	4 %	Bodensatz und Haut mäßig	Leichte Trübung, starker grobflockiger Bodensatz. Randbildung zirka 3 mm. Haut fast geschlossen.
	5 %	Wie bei 4 %	Wie bei 4 % Flüssigkeit dunkler gefärbt
	6 %	—	Flüssigkeit dunkler gefärbt. Vorläufig keine äußerlich sichtbare Entwicklung
	7 %	—	—
	8 %	—	—
	9 %	—	—
	10 %	—	—

Nach 14 Tagen	Nach 28 Tagen
Rand zirka 3 mm. Es ist nicht zur Bildung einer geschlossenen Haut gekommen	Keine Entfärbung. Bodensatz wenig stärker geworden. Rand unverändert, Haut noch nicht geschlossen. Wachstum schwächer wie bei 1—6 %
Wie beim blinden Versuch	Die Entwicklung ist stärker wie beim blinden Versuch. Der Bodensatz vermehrt sich durch abfallende Hautteile. Rand zirka 4 mm. Fast geschlossene Haut
Flüssigkeit klar, Bodensatz stärker, wie beim blinden Versuch. Rand zirka 4 mm. Geschlossene, schwache Haut	Geringe Trübung, starker Absatz. Hautteile fallen zu Boden. Rand zirka 4 mm. Haut nicht mehr geschlossen
Entwicklung etwas stärker wie bei 2 %	Die Kulturen zeigen nach Form und äußerer Beschaffenheit dasselbe Bild wie bei 2 %
Wie bei 3 %	Wie bei 3 %. Bodensatz nur zirka 1 mm hoch, gleichmäßiger
Entwicklung stärker, aber analog wie beim blinden Versuch	Geringe Trübung, gut entwickelter Bodensatz. Rand zirka 4 mm. Einzelne Hautinseln
—	Flüssigkeit klar, mäßiger Bodensatz. Rand nicht ganz geschlossen, 2—3 mm Keine Haut
—	Bodensatz mäßig entwickelt. Geringe Randteile
—	Einsaat sehr wenig entwickelt
—	Ab 9 % Entwicklung äußerlich nicht mehr erkennbar
—	—

Tabelle 7a.

No.	Versuch	Nach 1 Tage	Nach 4 Tagen
10	Blinder Versuch	Noch unverändert	Schwache Trübung und Randbildung. Bodensatz stärker geworden
	1 %	—	Trübung starker Bodensatz, beginnende Ringbildung
	2 %	—	Starke Trübung. Schwache Randbildung
	3 %	—	Wie bei 2 %
	4 %	—	Bedeutende Trübung. Geringe Randbildung
	5 %	—	Trübung, beginnende Randbildung
	6 %	—	—
	7 %	—	—
	8 %	—	—
	9 %	—	—
	10 %	—	—

Nach 14 Tagen	Nach 28 Tagen
Flüssigkeit getrübt, schwacher Bodensatz. Rand zirka 3 mm. Keine geschlossene Hautbildung	Schwacher, sehr feiner, schleimiger Bodensatz. Der Rand ist sehr fein bis zu 4 mm hoch. Haut noch nicht geschlossen
Wenig stärker wie beim blinden Versuch entwickelt	Kolonien sind nach äußerer Beschaffenheit gleich denen beim blinden Versuch
Schwächer, wie beim blinden Versuch entwickelt	Bodensatz und Rand schwächer wie bei 1 %. Keine Haut
Geringe Trübung, gut entwickelter Bodensatz, schwacher, zirka 2 mm hoher Rand. Vereinzelte Hautinselchen	Relativ starker Bodensatz. Rand bis zu 12 mm hoch, aber sehr schwach. Hautinseln kaum vermehrt
Bodensatz und Rand sind bedeutend stärker geworden. Haut fast geschlossen	Mäßiger Bodensatz. Rand nicht so hoch wie bei 3 %, aber etwas stärker. Haut nicht mehr geschlossen
Schwache Trübung. Rand zirka 2 mm	Entwicklung analog wie bei 4 %
—	Entwicklung schwächer wie bei 5 %
—	Kulturen verschieden entwickelt. Die eine analog wie bei 6 % entwickelt, in der anderen Rand- und Hautteile
—	Ab 8 % ist Entwicklung äußerlich nicht mehr sichtbar
—	—
—	—

Tabelle 7a.

No.	Versuch	Nach 1 Tage	Nach 4 Tagen
2	Blinder Versuch	Flüssigkeit unverändert. Geringer Bodensatz. Einzelne kleine, weißliche, schleimige Hautinseln	Haut noch nicht ganz geschlossen. Die Kulturen sind schwächer entwickelt, als die mit einem Alkoholzusatz von 1—6 %
	1 %	Bodensatz stärker wie beim blinden Versuch. Die Hautinseln bedecken fast die ganze Flüssigkeitsoberfläche	Starke Ringbildung, beginnende Randbildung. Haut ist jetzt geschlossen
	2 %	Wie bei 1 %	Starke Ringbildung, schwache Randbildung. Geschlossene Haut
	3 %	Flüssigkeit schwach entfärbt. Bodensatz und Haut etwa so stark wie beim blinden Versuch	Geringe Trübung. Sonst wie bei 2 %
	4 %	Flüssigkeit ist heller geworden. Geringer Bodensatz und schwächere Haut wie bei 3 %	Ring und Rand geschlossen. Zirka 3 mm hoch. Geschlossene Haut
	5 %	Schwache Entfärbung. Vereinzeilte Hautinseln	Ring geschlossen. Beginnende Randbildung. Geschlossene Haut
	6 %	—	Beginnende Haut- und Randbildung
	7 %	—	—
	8 %	—	—
	9 %	—	—
	10 %	—	—

Nach 14 Tagen	Nach 28 Tagen
Schwache Trübung und Entfärbung. Geringer Bodensatz. Keine Haut mehr	Bodensatz flockig, zirka 1 mm hoch. Sehr schwacher Rand. Beim Neigen der Kölbchen festerer Wandbelag sichtbar. Einzelne neue Hautinseln
Wenig weiter entwickelt. Rand zirka 2 mm	Geringe Trübung. Starker, bis zu 5 mm hoher Rand. Haut nicht mehr geschlossen. Unzweifelhaft bessere Entwicklung wie beim blinden Versuch
Etwas stärker entwickelt wie bei 1 %. Rand zirka 4—5 mm	Starker, flockiger Bodensatz. Haut nicht mehr geschlossen, nur noch einzelne große Hautinseln
Flüssigkeit klar und schwach entfärbt. Mäßiger Bodensatz. Rand zirka 3 mm. Schwacher Hautschleier	Entwicklung analog, aber stärker wie beim blinden Versuch
Kultur analog, aber stärker entwickelt wie bei 3 %	Sehr starker Bodensatz, zirka 2 mm hoch, grobflockig. Nahezu geschlossene Haut
Kulturen besser entwickelt wie die mit einem Alkoholzusatz von 4 und 6 %	Sehr starker Bodensatz. Rand bis zu 6 mm hoch. Fast geschlossene, neue Haut. Man sieht noch ihre Entstehung aus einzelnen großen Inseln
Schwache Trübung und Entfärbung, Absatz mäßig. Rand 3—4 mm. Schwache, geschlossene Haut	Fast so stark entwickelt wie bei 5%
—	Einsaat nur ganz wenig entwickelt
—	In der einen Kultur anscheinend schwache Entwicklung, in der anderen Entwicklung äußerlich nicht erkennbar
—	—
—	—

Tabelle 7a.

No.	Versuch	Nach 1 Tage	Nach 4 Tagen
15	Blinder Versuch	Unverändert	Nur wenige, grau-weiße, schleimige Hautinseln. Die Kulturen sind bedeutend weniger entwickelt, als diejenigen mit einem Alkoholzusatz von 1—7 %
	1 %	—	Schwache Trübung, sehr geringer Bodensatz, viel stärker entwickelt als der blinde Versuch. Geschlossene Haut, ihr Zustandekommen aus einzelnen Hefeinselchen ist noch erkennbar
	2 %	—	Geringe Trübung, mäßiger Absatz. Rand zirka 2 mm. Geschlossene Haut
	3 %	—	Starke Trübung, starke Randbildung, zirka 3 mm hoch. Haut ganz geschlossen
	4 %	—	Flüssigkeit dunkler gefärbt wie beim blinden Versuch. Keine Ring- und Randbildung. Haut noch nicht ganz geschlossen
	5 %	—	Geringe Trübung. Geringer Bodensatz. Schwache Randbildung. Fast geschlosseneHaut
	6 %	—	Geringe Trübung. Einzelne Hautinseln
	7 %	—	Einzelne Hautinseln
	8 %	—	—
	9 %	—	—
	10 %	—	—

Nach 14 Tagen	Nach 28 Tagen
Schwacher Hautschleier. Kulturen nur sehr wenig entwickelt	Geringe Randbildung, grau-weiß, schleimig, 1—2 mm hoch. Beim Neigen des Kölbchens an der Wandung dünnes Häutchen. Die Kulturen stehen in schroffem Gegensatz zu denen mit Alkoholzusatz
Die Kulturen gleichen nach äußerer Beschaffenheit dem Stadium am 4. Tag, nur ist der Bodensatz etwas stärker geworden. Rand zirka 2 mm	Geringe Trübung. Starker Bodensatz, 3—4 mm hoch, schwache, zirka 3 bis 4 mm hohe Randbildung. Geschlossene Haut
Entwicklung analog wie bei 1 %, aber etwas stärker	Wie oben
Kulturen sind viel stärker wie bei 2 % entwickelt. Starke Trübung	Analog, aber stärker wie bei 2 % entwickelt. Sehr starke Absätze, etwa 2 mm hoch
Geringe Trübung und Entfärbung, geringer Bodensatz. Rand 4—5 mm hoch. Sehr starke, kreidig-weißliche, grob gefaltete Haut, etwa 3 mm dick	Bodensatz zirka 4 mm hoch. Rand und Haut sind sehr gut entwickelt
Starke Trübung, geringer Bodensatz. Rand zirka 3—4 mm hoch. Geschlossene Haut, schwächer wie bei 4 %	Kulturen schwächer entwickelt wie bei 4 %
Wie bei 5 %	Kulturen etwas ungleich entwickelt. Die eine zeigt ungefähr das Bild wie bei 5 %, die andere ist im Wachstum zurück
Etwas stärker entwickelt wie bei 5%	Starke Trübung, starker Bodensatz. Rand zirka 4 mm hoch. Geschlossene, grob gefaltete Haut
Kulturen stärker entwickelt wie diejenigen mit geringerem Alkoholzusatz und ebenso stark wie die mit 4 %	Bodensatz, Rand und Haut stärker wie bei 7 %
Die Entwicklung ist stärker wie beim blinden Versuch	Starke Trübung, beträchtlicher Boden satz. Rand zirka 4 mm hoch. Grob gefaltete, geschlossene Haut.
Entwicklung etwa eben so stark wie beim blinden Versuch	Wie bei 9 %. Bei 10 % ist die Entwicklungsgrenze noch nicht erreicht

Tabelle 7a.

No.	Versuch	Nach 1 Tage	Nach 4 Tagen
16	Blinder Versuch	Geringer Bodensatz. Zahlreiche kleine, weißlich schleimige Inselchen	Flüssigkeit bleibt klar. Starker grobflockiger Bodensatz. Randbildung zirka 2 mm. Fast geschlossene Haut
	1 %	Die Hautinselchen bedecken fast die ganze Flüssigkeitsoberfläche	Bodensatz, Rand und Haut fast ebenso stark wie beim blinden Versuch
	2 %	Etwas stärker wie bei 1 % entwickelt	Wie oben
	3 %	Sehr geringer Bodensatz. Wenig Hautinseln	Kulturen analog, aber schwächer wie bei 2 % entwickelt
	4 %	Vereinzelte Hautinseln	Schwache Trübung, geringer Bodensatz. Einzelne Hautinseln
	5 %	Keine Hautbildung	Kein wesentlicher Unterschied in der äußeren Beschaffenheit gegenüber 4 %
	6 %	—	Einzelne Hautinseln
	7 %	—	—
	8 %	—	—
	9 %	—	—
	10 %	—	—

Nach 14 Tagen	Nach 28 Tagen
Flüssigkeit flockig getrübt und stark entfärbt. Bodensatz stark vermehrt. Rand zirka 5 mm. Haut ganz am Boden	Eine neue Hautgeneration ist im Entstehen begriffen, sonst wie oben.
Bodensatz und Haut wie beim blinden Versuch. Rand stärker	Die Kulturen sind jetzt besser entwickelt wie die vom blinden Versuch
Wie oben	Stärker entwickelt, wie bei 1 %. Am besten von allen Kulturen
Entfärbung schwächer. Kultur ist etwa ebenso stark entwickelt wie beim blinden Versuch	Bodensatz, Rand und Haut schwächer entwickelt wie bei 2 %
Geschlossene Haut, sonst wie beim blinden Versuch	Bodensatz zirka 2 mm. Rand zirka 3 mm hoch. Haut nicht mehr geschlossen
Analog, aber schwächer wie bei 4 % entwickelt	Schwächer entwickelt wie bei 4 %
In der einen Kultur starke Haut, die andere Kultur nur wenig entwickelt, geringer Rand	Bodensatz, Rand und Haut wenig gewachsen. In der einen Kultur zahlreiche Kolonien am Boden
Beginnende Hautbildung	Die Kulturen zeigen schwächere Entwicklung wie bei 6 %. Keine Randbildung, einzelne Hautinseln; die eine Kultur getrübt
—	Am Boden Kolonien in größerer Zahl sichtbar
—	Ab 9 % keine äußerlich sichtbare Entwicklung mehr
—	—

Tabelle 7b.

Wachstumserscheinungen in

No.	Versuch	Nach 1 Tage	Nach 4 Tagen
7	Blinder Versuch	Feiner Absatz über dem ganzen Boden	Am Boden sind neben dem grauweißen, feinen Belag mehrere kompakte, gelbliche Körnchen unterscheidbar. Keine Haut
	1 %	Wie beim blinden Versuch	Etwas schwächer wie beim blinden Versuch entwickelt. Keine Entfärbung. Keine Haut
	2 %	Wie bei 1 %. Geringe Entfärbung	Entwicklung etwa eben so stark wie beim blinden Versuch. Ziemlich starke Entfärbung. Oberfläche hautfrei
	3 %	Wie bei 2 %	Entwicklung wie bei 2 %. Weniger stark entfärbt. Keine Haut
	4 %	Entwicklung etwas besser wie beim blinden Versuch	Entwicklung wie beim blinden Versuch. Mäßige Entfärbung, keine Haut
	5 %	Noch keine sichtbare Entwicklung	Feiner Belag über dem ganzen Boden. Entwicklung und Entfärbung schwächer wie bei 4 %
	6 %	Entwicklung wie beim blinden Versuch	Mäßige Entfärbung. Starker Belag flockig, gelb-weiß, stärker wie bei 1—3 %. Keine Haut
	7 %	Wie bei 6 %	Entwicklung und Entfärbung wie bei 6 %
	8 %	—	Geringe Entwicklung und Entfärbung
	9 %	—	Keine äußerlich sichtbare Entwicklung
	10 %	—	—

Pepton-Lösung mit Alkoholzusatz.

Nach 14 Tagen	Nach 28 Tagen
Torula 7 zeigt von allen Arten vorläufig das schwächste Wachstum in Peptonlösung. Flüssigkeit klar, mäßiger Bodensatz	Flüssigkeit klar, mäßiger Bodensatz. Im Gegensatz zu Hefewasser keine Entfärbung. Es ist während der Dauer des Versuchs zu keinerlei Hautbildung gekommen
Flüssigkeit leicht getrübt. Mäßiger Bodensatz	Flüssigkeit klar. Bodensatz mäßig entwickelt. Auch hier keine Haut und keine Entfärbung
Wie beim blinden Versuch	Wie beim blinden Versuch. Starke Entfärbung
Wie bei 2 %	Wie bei 2 %
Etwas stärkere Entwicklung wie beim blinden Versuch	Wie oben. Schwache Entfärbung
Wie bei 4 %	Wie bei 4 %
Bodensatz stärker und grobflockiger wie bei 4 und 5 %	Schwache Entfärbung. Bodensatz mäßig, grobflockig. Nur sehr wenige kleine, gelblich-weiße Hautinseln
Wie bei 6 %	Wie bei 6 %. Spuren von Ringbildung
Ab 8 % keine äußerlich sichtbare Entwicklung mehr	Wie oben
—	—
—	—

Tabelle 7b.

No.	Versuch	Nach 1 Tage	Nach 4 Tagen
8	Blinder Versuch	Bodensatz grau-weiß, den ganzen Boden bedeckend. Geringe Entfärbung	Bodensatz zeigt einige verstärkte Partien. Vereinzelte, kleine Hautinseln, mattgrau
	1 %	Bodensatz und Entfärbung wie beim blinden Versuch	Wie beim blinden Versuch, aber noch keine Hautinseln
	2 %	Entwicklung etwas besser wie beim blinden Versuch	Geringe Trübung. Bodensatz stärker wie beim blinden Versuch, fahlgelb-weiß. KeineHaut
	3 %	Bodensatz etwas stärker wie bei 2 %	Wie oben. Flüssigkeit klar, keine Haut
	4 %	Entwicklung etwas besser wie bei 3 %	Flüssigkeit klar. Bodensatz stärker wie bei 3 %. Einzelne Hautinseln
	5 %	Wie bei 4 %	Entwicklung etwas schwächer wie bei 4 %
	6 %	Keine äußerlich sichtbare Entwicklung	Entwicklung analog, aber schwächer wie bei 5 %
	7 %	....	Sehr schwache Entwicklung. Vereinzelte, sehr kleine Hautinseln
	8 %	....	Wie bei 7 %
	9 %	—	—
	10 %	—	—

Nach 14 Tagen	Nach 28 Tagen
Die Entwicklung ist gut, aber schwächer wie bei den Kulturen mit Alkoholzusatz. Schwache Trübung. Mäßiger Bodensatz. Beginnende Ringbildung, Keine Haut	Die Kulturen zeigen ein schwächeres Wachstum als diejenigen mit Alkoholzusatz und ein bedeutend schwächeres als die in Hefewasser. Keine Entfärbung. Sonst wie oben
Schwache Trübung, Bodensatz wie beim blinden Versuch. Beginnende Randbildung. Keine Haut	Starke Trübung, üppigeres Wachstum wie beim blinden Versuch. Schwach dunkler gefärbte Nährflüssigkeit. Beginnende Randbildung. Beginnende Hautbildung, wenige graue, matte Hautinseln
Wie bei 1 %	Starke Trübung. Nährflüssigkeit schwach dunkelgelb gefärbt. Beginnende Randbildung. Wachstum besser wie bei 1 %, fast geschlossene Haut
Fast geschlossener Rand, sonst wie bei 1 %	Flüssigkeit fast klar, geschlossener Rand, schwache, nicht ganz geschlossene Haut. Sonst wie bei 1 %
Flüssigkeit klar, mäßiger Bodensatz. Kein Ring, keine Haut	Mäßiger, grobflockiger Bodensatz Keine Haut
Spuren von Hautinseln. Sonst wie bei 4 %	Entwicklung etwas schwächer, wie bei 4 %. Bodensatz schwächer wie bei 4% Die wenigen Hautinseln sind zu Boden gesunken
Flüssigkeit klar, Bodensatz grobflockig. Kein Ring und Rand. Einige Hautinseln	Wie bei 5 %
Wie bei 6 %	Wie bei 6 %
—	Ab 8 % keine äußerlich sichtbare Entwicklung mehr
—	—
—	—

Tabelle 7b.

No.	Versuch	Nach 1 Tage	Nach 4 Tagen
1	Blinder Versuch	Bodensatz nur wenig vermehrt	Geringer Bodensatz. Schwache Trübung
	1 %	Schwache Trübung, geringer Bodensatz	Starke Trübung, relativ starker Bodensatz. Beginnende Ringbildung. Keine Haut
	2 %	Entwicklung etwas besser wie bei 1 %	Wachstum wie bei 1 %, aber stärker
	3 %	Wie bei 2 %	Wie bei 2 %. Keine Ringbildung
	4 %	Entwicklung besser wie bei 3%	Wie bei 3 %. Beginnende Ringbildung
	5 %	—	Mäßige Trübung. Schwacher Bodensatz. Keine Haut
	6 %	—	Flüssigkeit klar. Geringer Bodensatz. Keine Haut
	7 %	—	Keine äußerlich sichtbare Entwicklung
	8 %	—	—
	9 %	—	—
	10 %	—	—

Nach 14 Tagen	Nach 28 Tagen
Entwicklung ist schwächer wie bei den Kulturen mit Alkoholzusatz. Starke Trübung, mäßiger Bodensatz, beginnende Ringbildung	Mäßiger, gleichmäßig glatter Bodensatz, starke Trübung. Beginnende Randbildung. Keine Haut
Starke Trübung. Mäßiger, gleichmäßiger Bodensatz. Rand 2—3 mm. Keine Haut	Mäßige Trübung, Bodensatz etwas stärker wie beim blinden Versuch. Rand schwach, 4—5 mm. Keine Haut
Der Bodensatz wächst an der Wand empor bis fast an die Flüssigkeitsoberfläche. Fast geschlossener Ring	Flüssigkeit schwach getrübt. Bodensatz und Rand schwächer wie bei 1 %. Keine Haut
Wie bei 2 %	Wie bei 2 %
Wie bei 3 %. Geschlossener Ring	Wie bei 3 %. Der Rand ist schwächer
Wie bei 4 %. Ring stärker, beginnende Randbildung	Analog, aber etwas besser entwickelt wie bei 4 %
Wie bei 5 %. Ring schwächer. Von 6—10 % ist der Bodensatz grobflockiger	Analog, aber schwächer wie bei 5 % entwickelt. Ab 6 % allmähliche Abnahme des Wachstums
Flüssigkeit fast klar. Bodensatz immer noch beträchtlich, grobflockig. Kein Ring	Nur Bodensatz
Analog 7 %	Nur Bodensatz
Ab 9 % keine äußerlich sichtbare Entwicklung	Wie oben
—	—

Tabelle 7b.

No.	Versuch	Nach 1 Tage	Nach 4 Tagen
9	Blinder Versuch	Schwache Entfärbung. Starker Bodensatz, flockig. Vereinzelte mattgrau-weiße Hautinselchen, etwa 2—3 mm Durchmesser	Schwache Trübung. Starke Entfärbung. Bodensatz stark vermehrt, grobflockig. Beginnende Ringbildung. Viele Hautinseln
	1 %	Bodensatz etwa ebenso stark wie beim blinden Versuch. Schwacher, schleimig grauer Ring. Keine Haut	Starke Trübung. Bodensatz wie beim blinden Versuch. Beginnende Randbildung. Noch keine Haut
	2 %	Schwächer entwickelt, wie bei 1 %. Kein Ring. Keine Haut	Starke Trübung. Bodensatz schwächer wie bei 1 %. Beginnende Ringbildung. Spuren von Hautinseln
	3 %	Entwicklung etwas besser wie bei 2 %. Schwache Trübung. Beginnende Ringbildung. Einzelne Hautinseln	Starke Trübung. Bodensatz beträchtlich. Geschlossener Ring. Hautinseln stark vermehrt
	4 %	Flüssigkeit klar, schwacher Bodensatz. Kein Ring. Einzelne Hautinseln	Hautinseln wenig vermehrt, im übrigen äußeres Aussehen wie am 1. Tag
	5 %	—	Flüssigkeit klar. Bodensatz etwas stärker geworden. Kein Ring. Einzelne Hautinseln
	6 %	—	—
	7 %	—	—
	8 %	—	—
	9 %	—	—
	10 %	—	—

Nach 14 Tagen	Nach 28 Tagen
Entwicklung schwächer wie bei 1 bis 7 %. Keine Trübung, mäßiger Bodensatz. Kein Ring und Rand. Keine Haut	Wie oben
Entwicklung besser wie beim blinden Versuch. Geringe Trübung. Mäßiger Bodensatz. Beginnende Ringbildung. Keine Haut	Starke Trübung. Bodensatz feinflockig. Geschlossener, weißer schleimiger Ring. Keine Haut
Entwicklung etwas stärker wie bei 1 %. Fast geschlossener Ring	Starke Trübung. Bodensatz feinflockig. Schwache Entfärbung. Rand unregelmäßig bis zu 5 mm
Rand zirka 4—5 mm. Sonst wie oben	Starke Trübung, geringe Entfärbung. Haut ganz zu Boden gefallen
Vorläufig bedeutend schwächer wie bei 3 % entwickelt	Flüssigkeit fast klar, geringe Entfärbung. Bodensatz grobflockiger wie bei 1—2 %. Rand zirka 3 mm. Keine Haut mehr
Wie oben	Schwache Trübung. Bodensatz stärker und grobflockiger wie bei 1—4 %. Beginnende Randbildung. Keine Haut mehr
Flüssigkeit klar. Bodensatz grobflockiger wie bei den anderen Kulturen	Flüssigkeit getrübt. Bodensatz zirka 2 mm hoch. Geringe Entfärbung. Hautinseln wenig vermehrt
Beträchtlicher Bodensatz. Keine Haut	Nur Bodensatz grobflockig. Keine Haut
Ab 8 % keine äußerlich sichtbare Entwicklung	Wie oben
—	—
—	—

Tabelle 7b.

No.	Versuch	Nach 1 Tage	Nach 4 Tagen
10	Blinder Versuch	Noch keine sichtbare Entwicklung	Geringe Trübung. Geringer Bodensatz
	1 %	—	Bodensatz und ganze Entwicklung schwächer wie beim blinden Versuch
	2 %	—	Entwicklung sehr gering
	3 %	—	Wie bei 2 %
	4 %	—	Noch keine sichtbare Entwicklung
	5 %	—	—
	6 %	—	—
	7 %	—	—
	8 %	—	—
	9 %	—	—
	10 %	—	—

Nach 14 Tagen	Nach 28 Tagen
Entwicklung schwächer wie bei 1 bis 4 %. Sehr geringe Trübung, sehr mäßiger Bodensatz, mäßige Entfärbung. Keine Haut	Kulturen zeigen nach Form und äußerer Beschaffenheit dasselbe Bild wie nach 14 Tagen
Trübung und Bodensatz ist jetzt stärker wie beim blinden Versuch. Schwache Entfärbung. Beginnende Ringbildung	Geringe Trübung, mäßiger, feinflockiger Bodensatz, gleichmäßig abgelagert. Beginnende Randbildung. Keine Haut. Die Entwicklung ist stärker wie beim blinden Versuch
Wie bei 1 %	Trübung und Bodensatz wie bei 1 %. Schwacher Rand, 2—3 mm
Trübung stärker wie bei 2 %. Bodensatz etwa eben so stark. Schwache Entfärbung. Kein Ring	Trübung und Bodensatz wenig stärker wie bei 2 %. Beginnende Randbildung
Nach dem äußeren Bild ist die Entwicklung etwas besser wie bei 3 %. Schwache Entfärbung. Beginnende Ringbildung.	Mäßige Trübung. Bodensatz etwas besser wie bei 1 % entwickelt. Spuren von Ring und Rand. Auch hier keine Haut
Wie bei 4 %	Kulturen etwas verschieden entwickelt. Geringe Trübung. Bodensatz besser wie bei 1—3 %, grobflockig, ungleichmäßig abgelagert. Keine Entfärbung. Spuren von Ring und Rand. Parallelkultur im Wachstum zurück
Die Kulturen zeigen, wie die von 1 bis 5 % Trübung und relativ gut entwickelten Bodensatz, schwache Entfärbung, dagegen keine Spur von Haut	Spuren von Hautinseln. Sonst wie oben
Spuren von Ring und Hautinseln. Sonst wie bei 6 %	Flüssigkeit klar. Bodensatz ungleichmäßig entwickelt. Spuren von Ring und Hautinseln
Spuren von Hautinseln	Wie bei 7 %
Wie bei 8 %	Wie bei 8 %
Äußerlich keine Entwicklung sichtbar	Wie oben

Tabelle 7b.

No.	Versuch	Nach 1 Tage	Nach 4 Tagen
2	Blinder Versuch	Flüssigkeit unverändert. Schwacher Bodensatz. Einzelne weiße, schleimige matte Hautinseln	Starke Trübung und Entfärbung. Bodensatz und Hautinseln stark vermehrt
	1 %	Bodensatz und Hautinseln etwas stärker wie beim blinden Versuch	Trübung, Bodensatz und Hautinseln wenig stärker wie beim blinden Versuch
	2 %	Entwicklung wie beim blinden Versuch	Wie oben
	3 %	Entwicklung analog, aber etwas stärker wie beim blinden Versuch	Entwicklung bedeutend stärker wie beim blinden Versuch Starke Trübung, beginnende Ringbildung. Hautinseln bedecken fast die ganze Flüssigkeitsoberfläche
	4 %	Schwächer, wie bei 3% entwickelt	Wie oben. Beginnende Ringbildung
	5 %	Schwächer, wie bei 4% entwickelt	Bedeutend schwächer wie bei 4 % entwickelt. Keine Trübung, kein Ring
	6 %	Sehr schwache Entwicklung	Keine Trübung. Geringer Bodensatz. Nur wenig Hautinseln
	7 %	—	Flüssigkeit klar, wenig Bodensatz. Spuren von Hautinseln
	8 %	—	Bodensatz zeigt einige verstärkte Partien. Keine Haut
	9 %	—	—
	10 %	—	—

Nach 14 Tagen	Nach 28 Tagen
Schwache Trübung, Bodensatz mäßig, feinflockig. Beginnende Ringbildung. Hautinseln zu Boden gesunken.	Schwache Trübung. Bodensatz feinflockig, gleichmäßig abgelagert. Ring geschlossen. Keine neue Haut. Schwächer entwickelt wie dieKulturen mit 1—6 % Alkohol
Besser wie der blinde Versuch entwickelt. Geringe Trübung, beträchtlicher Bodensatz. Rand grau-weiß, schleimig, unregelmäßig, 2—6 mm. Einzelne weißliche, kleine Hautinselchen	Die Kulturen zeigen dasselbe äußere Bild wie nach 14 Tagen
Entwicklung analog, aber etwas stärker wie bei 1 %	Starke Trübung. Flockiger Bodensatz, ungleichmäßig abgelagert. Rand trocken, 5—6 mm. Zahlreiche weißgelbe Hautinseln
Entwicklung stärker wie bei 2 %. Rand 6—8 mm.	Analog wie bei 2 %, aber stärker entwickelt
Entwicklung besser wie bei 1—3 %. Trübung, Bodensatz und Rand stärker wie bei 1—3 %. Sehr viele Hautinseln	Starke Trübung. Beträchtlicher Bodensatz, zirka 2 mm hoch, grobflockig, ungleichmäßig abgelagert. Rand bis 8 mm. Haut fast geschlossen
Von hier ab nimmt die Entwicklung allmählich ab. Geringe Trübung. Beginnende Randbildung. Spuren von Hautinseln	Analog, aber schwächer wie bei 4 % entwickelt
Entwicklung schwächer, aber analog wie bei 1 %	Starke Trübung, Grobflockiger, starker Bodensatz, ungleichmäßig abgelagert. Schwacher Rand, 2—4 mm hoch. Einzelne Hautinseln
Flüssigkeit klar. Mäßiger Bodensatz. Keine Trübung, kein Ring	Wie nach 14 Tagen
Wie nach 4 Tagen	Nur der Bodensatz hat sich etwas entwickelt
—	Ab 9 % ist keine Entwicklung mehr äußerlich sichtbar
—	—

Tabelle 7b.

No.	Versuch	Nach 1 Tage	Nach 4 Tagen
15	Blinder Versuch	Keine äußerlich sichtbare Entwicklung	Geringe Trübung, schwacher Bodensatz. Vereinzelte, grauweiße, schleimige Hautinseln. Die Kulturen sind bedeutend schwächer entwickelt wie diejenigen mit Alkoholzusatz
	1 %	Geringe Trübung, mäßiger Bodensatz. Einzelne Hautinseln	Starke Trübung und Entfärbung, starker grobflockiger Bodensatz. Haut fast ganz geschlossen
	2 %	Etwas besser wie bei 1 % entwickelt	Entwicklung analog, aber stärker wie bei 1 %. Beginnende Ringbildung
	3 %	Analog, aber schwächer wie bei 2 % entwickelt	Wie bei 2 %
	4 %	Wie bei 3 %	Die eine Kultur ist etwas besser, die andere etwas schwächer wie bei 1 % entwickelt
	5 %	Besser wie bei 3 % entwickelt	Wie bei 1 %. Geschlossener Ring.
	6 %	Wie bei 1 %	Ring und Bodensatz stärker wie bei 5%. Trübung schwächer
	7 %	Wie bei 1 %	Teile der nicht ganz geschlossenen Haut fallen zu Boden. Sonst wie bei 6 %
	8 %	Wie bei 1 %	Wie bei 7 %. Beginnende Randbildung
	9 %	Wie bei 1 %	Schwache Trübung. Starker, grobflockiger Bodensatz. Beginnende Randbildung. Fast geschlossene Haut, teilweise schon zu Boden gefallen
	10 %	Wie bei 1 %	Wie bei 9 %

Nach 14 Tagen	Nach 28 Tagen
Die Kulturen sind gegenüber denen mit Alkoholzusatz bedeutend zurück. Spuren von neuen Hautinseln	Flüssigkeit ganz klar, Bodensatz schwach, bedeckt nicht den ganzen Gefäßboden. Flüssigkeitsoberfläche ist jetzt hautfrei
Flüssigkeit schwach getrübt und stark entfärbt. Sehr starker Bodensatz. Rand 4—5 mm. Geschlossene Haut, die einzelnen Hautinseln sind noch erkennbar	Flüssigkeit klar. Bodensatz zirka 3 mm hoch, grobflockig, gleichmäßig gelagert, schwache Entfärbung. Geschlossener, rein weiß-kreidiger Ring. Rand 6—8 mm. Geschlossene, fein gefaltete Haut
Analog 1 %	Wie bei 1 % entwickelt
Die Kulturen sind jetzt stärker wie bei 2 % entwickelt	Analog, aber stärker wie bei 1 % entwickelt
Kulturen sind jetzt wieder gleichmäßig und stärker wie bei 1—3 % entwickelt	Haut nicht mehr geschlossen. Sonst wie bei 1—3 % entwickelt
Wie bei 4 %	Sehr starke Entfärbung, Haut geschlossen, sonst wie bei 1 %
Stärker wie bei 5 % entwickelt	Besser wie bei 1—3 % entwickelt. Rand zirka 8 mm. Sonst wie bei 1 %
Starker, grobflockiger Bodensatz, gleichmäßig abgelagert. Rand 3 bis 4 mm. Haut noch nicht ganz geschlossen	Von 7 % ab wird die Entwicklung allmählich schwächer
Wie bei 7 %	Geringe Trübung und Entfärbung. Bodensatz bedeutend schwächer wie bei 1 %. Ring geschlossen. Rand zirka 5 mm. Haut nicht ganz geschlossen
Wie bei 7 %	Wie bei 8 %
Bei 10 % ist die Entwicklungsgrenze noch nicht erreicht	Wie bei 8 %

Tabelle 7b.

No.	Versuch	Nach 1 Tage	Nach 4 Tagen
16	Blinder Versuch	Schwache Trübung, geringer Bodensatz. Vereinzelte kleine, schleimige, weiße Hautinseln	Starke Trübung. Starker grobflockiger Bodensatz. Ringbildung. Hautinseln stark vermehrt
	1 %	Die Inseln sind zahlreicher wie beim blinden Versuch	Bodensatz schwächer wie beim blinden Versuch. Weißlicher, schleimiger Ring. Haut fast ganz geschlossen
	2 %	Entwicklung etwas besser wie bei 1 %	Entwicklung etwas stärker wie bei 1 %. Beginnende Randbildung.
	3 %	Wie bei 2 %	Wie bei 2 %
	4 %	Keine äußerlich sichtbare Entwicklung	Mäßiger Bodensatz. Kein Ring. Fast geschlossene Haut
	5 %	—	In der einen Kultur schwache Trübung, sonst wie bei 4 %
	6 %	—	Hautinseln weniger zahlreich, sonst wie bei 5 %
	7 %	—	Vereinzelte Hautinseln, sonst unverändert
	8 %	—	—
	9 %	—	—
	10 %	—	—

Nach 14 Tagen	Nach 28 Tagen
Geringe Trübung. Gut entwickelter Bodensatz. Rand zirka 3 mm. Haut ganz am Boden	Mäßiger, feinflockiger Bodensatz, gleichmäßig abgelagert. Vereinzelte Hautinseln einer neuen Generation
Entwicklung etwa ebenso stark wie beim blinden Versuch	Kulturen sind jetzt besser entwickelt wie beim blinden Versuch. Starke Trübung, gut entwickelter, feinflokkiger, locker abgelagerter Bodensatz, schwache Entfärbung. Rand zirka 4 mm
Entwicklung scheinbar etwas besser wie bei 1 %	Stärker wie bei 1 % entwickelt
Trübung, Bodensatz und Haut wie wie bei 2 %	Wie bei 2 %
Entwicklung schwächer wie bei 1 bis 3 %	Flüssigkeit klar. Starker, flockiger Bodensatz, locker gelagert. Rand schwächer wie bei 1 %
Beide Kulturen gleichmäßig stark entwickelt	Schwacher, zirka 2 mm hoher, grauer, schleimiger Rand, starke Trübung, lockerer, grobflockiger Bodensatz, ungleich abgelagert
Hautinseln etwas vermehrt	Analog, aber besser wie bei 5 % entwickelt. Bodensatz zirka 2 mm hoch
Schwächer wie bei 6 % entwickelt	Flüssigkeit klar. Bodensatz grobflockig, bedeckt nicht den ganzen Boden. Kein Ring oder Rand. Keine Haut
Flüssigkeit klar, starker Bodensatz. Kein Ring und Rand. Einzelne Hautinsel	Wie nach 14 Tagen
Wie bei 8 %	Wie nach 14 Tagen
Ab 10% keine äußerlich sichtbare Entwicklung mehr	Wie nach 14 Tagen

Tabelle 9.

Wachstumserscheinungen in

No.	Säure	Nach 4 Tagen	Nach 8 Tagen
7	Kontrollversuch ohne Zusatz	—	Flüssigkeit getrübt
	Ameisensäure	—	Flüssigkeit klar, Bodensatz etwas vermehrt
	Essigsäure	—	Flüssigkeit schwach getrübt. Bodensatz wächst etwa 6 mm an der Wand empor
	Milchsäure	—	Flüssigkeit klar, vom Absatz wachsen strahlenförmig Sproßverbände an der Gefäßwand empor
	Bernsteinsäure	—	Flüssigkeit klar, Bodensatz wächst wie bei Essigsäure
	Äpfelsäure	—	Wie bei Bernsteinsäure
	Weinsäure	—	Analog, aber schwächer wie bei Bernsteinsäure entwickelt
	Zitronensäure	—	Flüssigkeit klar. Bodensatz wächst energisch an der Gefäßwand empor
8	Kontrollversuch ohne Zusatz	—	Schwache Trübung. Bodensatz schickt an der Gefäßwand parallellaufende Sproßverbände empor
	Ameisensäure	—	Flüssigkeit klar, sonst wie beim blinden Versuch

Peptonlösung mit Säurezusatz.

Nach 14 Tagen	Nach 25 Tagen	Nach 180 Tagen
Flüssigkeit schwach getrübt. Bodensatz wenig entwickelt, wächst zirka 1 cm an der Wand empor. Noch keine Hautbildung	Flüssigkeit schwach getrübt, Absatz gering, feinsandig. Keine Haut	Flüssigkeit klar, Absatz mäßig, viele punktförmige Kolonien. Kein Ring und Rand. Keine Haut
Flüssigkeit klar, sonst wie beim blinden Versuch	Nur der Bodensatz ist in Form vieler kleiner Kolonien entwickelt	Absatz bedeckt gleichmäßig den ganzen Boden, wächst etwas an der Wand empor
Wie beim blinden Versuch	Flüssigkeit klar, Absatz wie beim blinden Versuch	Flüssigkeit klar, Absatz grobflockig, ziemlich stark
Entwicklung analog, aber schwächer wie beim blinden Versuch	Wie nach 14 Tagen	Wie beim blinden Versuch
Flüssigkeit schwach getrübt, sonst wie am achten Tag	Flüssigkeit klar, schwacher Absatz	Flüssigkeit klar, Absatz mäßig, feinflockig
Wie bei Bernsteinsäure	Wie bei Bernsteinsäure	Wie bei Bernsteinsäure
—	Bodensatz in Form vieler großer, etwa 3 mm hoher Kolonien entwickelt	Wie nach 25 Tagen. Flüssigkeit schwach orange gefärbt
Flüssigkeit klar. Bodensatz zeigt viele scharf abgegrenzte Kolonien	Schwache Trübung und mäßiger Absatz	Ziemlich starker Absatz, zirka 2 cm an der Wand emporwachsend, gleichmäßig abgelagert
Flüssigkeit schwach getrübt, sonst wie nach 8 Tagen. Vereinzelte Hautinseln, mattgrau. Durchmesser 4—6 mm, hauptsächlich an der Gefäßwand	Flüssigkeit klar. Absatz wie oben beschrieben. Rand zirka 3—4 mm. Flüssigkeitsoberfläche fast ganz bedeckt von einer zusammenhängenden, graumatten Haut	Flüssigkeit mit Absatz kaffeebraun gefärbt; Farbentiefe 16. Rand mattbraun. Einzelne Hautinseln
Wie nach 8 Tagen	Flüssigkeit klar. Absatz zeigt viele kleine, scharf begrenzte, etwa 2 mm hohe Kolonien. Kein Ring und Rand. Keine Haut	Flüssigkeit nicht gefärbt. Schwache Trübung. Kein Ring und Rand. Schwacher Hautschleier

Tabelle 9.

No.	Säure	Nach 4 Tagen	Nach 8 Tagen
8	Essigsäure	—	Flüssigkeit in der Nähe des Bodens getrübt. Auch hier keine Spur von Haut
	Milchsäure	—	Wie beim blinden Versuch
	Bernsteinsäure	—	Wie beim blinden Versuch
	Äpfelsäure	—	Wie beim blinden Versuch
	Weinsäure	—	Wie bei Essigsäure
	Zitronensäure	—	Wie beim blinden Versuch
1	Kontrollversuch ohne Zusatz	—	Geringe Trübung. Absatz schickt parallele Sproßverbände nach oben. Keine Haut

Nach 14 Tagen	Nach 25 Tagen	Nach 180 Tagen
Keine äußerlich sichtbare Weiterentwicklung	Absatz sehr mäßig. Kein Ring und Rand. Keine Haut	Nur der Absatz ist etwas entwickelt, feinmehlig, gleichmäßig
Bodensatz entwickelt sich in Form kleiner, punktförmiger Kolonien	—	Absatz sehr gleichmäßig in Form vieler punktförmiger Kolonien. Kein Ring und Rand. Einzelne Hautinseln
Bodensatzkolonien kleiner, aber zahlreicher wie bei Milchsäure	—	Rand ungleichmäßig, 3—5 mm, tief kaffeebraun gefärbt. Flüssigkeit ebenso, Farbentiefe 14. Absatz etwas heller gefärbt. Viele Hautinseln
Wie beim blinden Versuch Absatz feinmehlig	—	Flüssigkeit, Absatz und Rand tief dunkelbraun gefärbt. Farbentiefe 17. Rand etwa 5 mm hoch. Zahlreiche Hautinseln
Bodensatz hat sich in Form zahlreicher, zackig verzweigter Kolonien (Durchmesser 4—5 mm) entwickelt und wächst etwa 4 mm an der Wand empor	—	Flüssigkeit klar. Absatz mäßig, gleichmäßig abgelagert, viele Kristalle von oxalsaurem Kalk, Flüssigkeit orange gefärbt Farbentiefe 0,9. Ring und Rand braun. Zahlreiche mattbraune Hautinseln
Etwas stärker, aber analog wie beim blinden Versuch entwickelt	—	Wie beim blinden Versuch. Hautinseln zahlreicher, dunkelbraunschwarz. Farbentiefe 16
Flüssigkeitsoberfläche hautfrei, beginnende Ringbildung. Flüssigkeit schwach getrübt. Absatz feinmehlig	Flüssigkeit fast klar, Absatz sehr gering m. einigen besser entwickelten Kolonien. Beginnende Ring- und Randbildung. Einzelne kleine gelb bis graumatte Hautinseln	Flüssigkeit klar, geringer gleichmäßiger Absatz, wächst 2 cm an der Wand empor. Kristalle von oxalsaurem Kalk. Rand 4—5 mm. Viele punktförmige kleine Hautinseln

Tabelle 9.

No.	Säure	Nach 4 Tagen	Nach 8 Tagen
1	Ameisensäure	—	Wie beim blinden Versuch, nur ist die Ringbildung etwas schwächer
	Essigsäure	—	Nur Bodensatz, wenig entwickelt
	Milchsäure	—	Geringe Trübung in der Nähe des Bodens. Absatz gut entwickelt
	Bernsteinsäure	Flüssigkeit schwach getrübt. Sonst keine sichtbare Entwicklung	Schwache Trübung, stärker nahe der Flüssigkeitsoberfläche. Starker Absatz. Beginnende Ringbildung. Einzelne weißgraue Hautinseln mit verstärktem Rand
	Äpfelsäure	—	Flüssigkeit schwach getrübt. Absatz minimal. Zahlreiche, weiß-gelbe Hautinseln mit durchscheinenden, punktförmigen Stellen
	Weinsäure	Viele sehr kleine, weißschleimige Inselchen	Schwache Trübung. Viele Hautinseln, teils weiß kreidig mit aufgebogenem Rand, teils mattgrau. Einzelne dieser Inseln sind als Ganzes zu Boden gefallen

Nach 14 Tagen	Nach 25 Tagen	Nach 180 Tagen
Wie beim blinden Versuch. Nur ist die Ringbildung etwas schwächer	Schwache Trübung. Absatz mäßig, gleichmäßig entwickelt. Ring geschlossen, grau bis weiß. Keine Haut	Flüssigkeit klar, mäßiger, feinflockiger Absatz. Viele Kristalle von oxalsaurem Kalk. Rand 4 mm, grauweiß. Zahlreiche, graue matte Hautinseln
Flüssigkeit schwach getrübt, stärker nahe der Flüssigkeitsoberfläche. Absatz zeigt mehrere gut entwickelte Kolonien. Beginnende Ringbildung Einzelne große, graumatte Hautinseln, Durchmesser 45—50 mm	Mäßige Trübung. Die meisten Inseln der alten Generation am Boden, einzelne sehr kleine, neue Hautinseln	Rand etwas schwächer wie beim blinden Versuch Keine Haut. Große Hautfetzen am Boden
Flüssigkeit bis etwa 20 mm unter der Oberfläche getrübt. Absatz zeigt mehrere kreisrunde, ca. 2 mm hohe Kolonien. Mehrere teils grau-weiße, matte, teils grau-glasige Hautinseln mit weißen Punkten	Schwache Trübung. Absatz mäßig, feinsandig, gleichmäßig abgelagert. Ring schwach geschlossen. Keine Haut	Flüssigkeit klar, Absatz feinflockig, grau bis gelb. Kristalle von oxalsaurem Kalk. Weder Ring noch Rand, noch Haut
Schwache Trübung, Absatz feinflockig, vermengt mit zu Boden gefallenen, aufgerollten, großen Hautfetzen. Beginnende Ringbildung. Haut noch nicht geschlossen	Starke Trübung. Starker grobflockiger Absatz, ungleichmäßig abgelagert. Geschlossener Ring. Geschlossene Haut	Sehr starker, grobflockiger Absatz. Kristalle. Dicker, gelblich glasiger Rand 2 cm. Reste sehr kleiner Hautinseln
Schwache Trübung. Gefäßboden fast ganz mit Hautfetzen bedeckt. Beginnende Ringbildung. Alte Haut am Boden. Zahlreiche neu gebildete Hautinseln. Durchmesser 40—50 mm	Starke Trübung, geringer feinkörniger Absatz. Rein weißer, geschlossener Ring. Neue, geschlossene Haut	Wie bei Miclhsäure
Schwache Trübung. Kein Ring. Hautinseln stark vermehrt. Einige wenige am Boden	Schwache Trübung. Absatz grobflockig. Geschlossener rein weißer Ring. Flüssigkeitsoberfläche erscheint marmoriert infolge der Zusammensetzung aus alten und neu gebildeten Hautinseln	Kein Ring und Rand. Keine Haut mehr. Kristalle

Tabelle 9.

No.	Säure	Nach 4 Tagen	Nach 8 Tagen
1	Zitronensäure	—	Die Kulturen zeigen dasselbe äußere Bild wie bei Weinsäure. Beginnende Ringbildung
9	Kontrollversuch ohne Zusatz	—	Flüssigkeit schwach getrübt, beginnende Randbildung. Absatz wächst unregelmäßig nach oben
	Ameisensäure	—	Flüssigkeit klar, Absatz schickt parallele Sproßverbände senkrecht nach oben. Keine Haut
	Essigsäure	Flüssigkeit klar, geringer Absatz. Vereinzelte grau-weiße Hautinseln. Einzelne sinken zu Boden	Bodensatz grobflockig, gut entwickelt. Beginnende Ringbildung. Einzelne weißgraue Hautinseln
	Milchsäure	Wie bei Essigsäure	Absatz mäßig, fast geschlossener Ring. Zahlreiche mattgraue Hautinseln mit weißem Rand
	Bernsteinsäure	Schwache Trübung, gut entwickelter Bodensatz. Beginnende Ringbildung. Flüssigkeitsoberfläche fast ganz bedeckt mit mattgrauen Hautinseln	Starke Trübung nahe der Flüssigkeitsoberfläche. Absatz gering. Ring weiß, fast geschlossen. Fast geschlossene, schwache graue Haut
	Äpfelsäure	Wie bei Bernsteinsäure	Wie bei Bernsteinsäure

Nach 14 Tagen	Nach 25 Tagen	Nach 180 Tagen
Wie bei Weinsäure. Beginnende Ringbildung	Absatz sehr gering. Haut wie bei Weinsäure	Flüssigkeit klar, starker, grobflockiger Absatz. Rand 4—5 mm. Haut fast geschlossen
Flüssigkeit klar, Absatz wächst etwa 12 mm an der Wand empor. Sehr schwache beginnende Randbildung	Schwache Trübung. Rand schwach, 4—5 mm, Flüssigkeitsoberfläche hautfrei, sonst wie nach 14 Tagen	Schwache Trübung. Absatz mäßig, grobflockig. Kristalle. Rand 5 mm. Keine Haut
Analog, aber schwächer wie beim blinden Versuch entwickelt. Kein Rand	Flüssigkeit klar. Absatz feinmehlig, gleichmäßig abgelagert. Ring weiß, schleimig, geschlossen, keine Haut	Flüssigkeit schwach dunkler gefärbt. Absatz gelbweiß, Rand dick. Keine Haut
Absatz grobflockig, ungleichmäßig abgelagert. Rand grau-weiß, schwach, 5—6 mm. Die Hautinseln bedecken etwa $^2/_3$ der Flüssigkeitsoberfläche	Absatz wächst nicht nach oben. Hautinseln milchig-weiß, Durchmesser bis zu 14 mm, nicht scharf begrenzt	Flüssigkeit dunkler gefärbt, Absatz stark, grobflockig, gelb, sehr viele Kristalle. Rand deutlich gelb. Einzelne gelbe Hautinseln
Starke Trübung, Absatz wie bei Essigsäure. Ring fast geschlossen, beginnende Randbildung. Die älteren Hautinseln sind gelblich, die jüngeren grau-weiß	Die Hautinseln sind jetzt länglich und stark gekrümmt, durch Teilung aus den größeren entstanden, Teile der Haut in großen Fetzen am Boden,	Wie bei Essigsäure
Trübung und Absatz wie bei Milchsäure, milchig-weißer Ring. Eine zusammenhängende Hautmasse bedeckt fast die ganze Flüssigkeitsoberfläche	Nächst Ameisensäure am schwächsten entwickelt analog wie beim blinden Versuch	Flüssigkeit dunkler gefärbt. Farbentiefe 0,6. Kristalle. Absatz gelb, stark. Rand 4 mm, weißgelb. Haut geschlossen
Starke Trübung, ziemlich starker Absatz, der bis zur Oberfläche an der Gefäßwand emporgewachsen ist. Mehrere ganz große, mattgraue Hautinseln bedecken etwa $^4/_5$ der Flüssigkeitsoberfläche	Starke Trübung. An der Gefäßwand haben sich viele kleine punktförmige Kolonien angesetzt. Haut ganz am Boden. Neubildung beginnt	Flüssigkeit klar, Absatz weißgelb, grobflockig. Keine Haut

Tabelle 9.

No.	Säure	Nach 4 Tagen	Nach 8 Tagen
9	Weinsäure	Flüssigkeit klar, Absatz grobflockig. Beginnende Ringbildung. Mattgraue, geschlossene Haut	Absatz wächst unregelmäßig an der Wand empor. Starker, weißer glasiger Ring. Sehr schwache, mattgraue, geschlossene Haut
	Zitronensäure	Flüssigkeit klar, gut entwickelter, grobflockiger Absatz. Ring fast geschlossen. Geschlossene Haut, deren Zustandekommen aus einzelnen Hautinseln noch gut erkennbar ist	Schwache Trübung, beginnende Ringbildung. Fast geschlossene Haut, aus vielen, unregelmäßig begrenzten weißgrauen Hautinseln bestehend
10	Kontrollversuch ohne Zusatz	—	Flüssigkeit getrübt, Absatz gering. Keine Haut
	Ameisensäure	—	Wie beim Kontrollversuch
	Essigsäure	—	Flüssigkeit klar, Absatz wächst etwa 9 mm an der Gefäßwand empor
	Milchsäure	—	Wie bei Essigsäure
	Bernsteinsäure	—	Wie bei Essigsäure

Nach 14 Tagen	Nach 25 Tagen	Nach 180 Tagen
Starke Trübung, mäßiger Absatz. Haut und Rand geschlossen, letzterer milchig-weiß, etwa 4 mm hoch	Wie nach 14 Tagen	Wie bei Apfelsäure. Absatz mäßig
Flüssigkeit schwach getrübt. Absatz wie bei Essigsäure. Haut ganz am Boden	Die Kulturen stehen hinsichtlich äußerer Entwicklung an der Spitze. Rand etwa 3 mm hoch. Haut fein marmoriert, teils grau matt, teils milchig schleimig	Absatz rein weiß, stark. Keine Haut
Außer einer geringen Trübung zeigen die Kulturen keine sichtbare Weiterentwicklung	Ring sehr schwach, fast geschlossen. Oberfläche etwa zur Hälfte von einer gelbschleimigen Hautschicht bedeckt	Flüssigkeit klar. Absatz mäßig. Ring geschlossen. Rand 2 mm
Absatz feinsandig, geringe Spuren einer feinen, mattgrauen, trockenen Haut	Wie beim Kontrollversuch	Absatz sehr gering, feinflockig, gleichmäßig. Keine Haut
Wie nach 8 Tagen	Starke Trübung, am stärksten nahe der Flüssigkeitsoberfläche. Absatz gleichmäßig, feinsandig, wächst zirka 4 mm an der Wand empor. Rand schwach etwa 4—5 mm. Fast geschlossene, schwache graue Haut	Wie nach 25 Tagen
Schwache Trübung, geringer Absatz. Die eine Kultur hautfrei, in der anderen haben sich an der Gefäßwand zwei große Hautinseln, Durchmesser 3 cm, angesetzt, mattgrau, trocken, mit gelapptem Rand	Wie bei Essigsäure	Absatz mäßig, feinflockig, sehr gleichmäßig gelagert. Rand 5 mm, grau. Haut geschlossen
Schwache Trübung, stärker nahe der Flüssigkeitsoberfläche. Geringer Bodensatz, auf der Oberfläche einige Hautinseln wie bei Milchsäure	Absatz wächst etwa 14 mm an der Wand empor, sonst wie nach 14 Tagen	Sehr starker Absatz, aus abgefallenen Hautfetzen bestehend. Rand 4 mm, gelb, geschlossene, gelbe Haut

Tabelle 9.

No.	Säure	Nach 4 Tagen	Nach 8 Tagen
10	Äpfelsäure	—	Schwache Trübung, sonst wie bei Essigsäure
	Weinsäure	—	Geringe Trübung. Absatz wächst etwa 8 mm an der Wand empor. Einige mattgraue, runde Hautinseln, nahe der Gefäßwand
	Zitronensäure	—	Wie bei Weinsäure
2	Kontrollversuch ohne Zusatz	Flüssigkeit klar, Absatz gering. Zahlreiche kleine weißliche, schleimige Hautinseln	Schwache Trübung, Absatz gering. Beginnende Ringbildung. Zwischen den älteren weißlichen Inseln haben sich jüngere, mattgrau-schleimige gebildet. Durchmesser bis zu 20 mm
	Ameisensäure	Wie beim Kontrollversuch	Schwache Trübung, geringer Absatz. Kein Ring. Die weißlichen Inseln sind zu Boden gesunken, an deren Stelle haben sich einige ganz große, mattgraue Hautinseln gebildet. Durchmesser 45—50 mm.

Nach 14 Tagen	Nach 25 Tagen	Nach 180 Tagen
Trübung wie bei Bernsteinsäure, Absatz wächst etwa 1 cm an der Wand empor. Einige große Hautinseln, mattgrau, trocken, teils gelblich, schleimig, Durchmesser 12—15 mm	Wie nach 14 Tagen. Absatz zeigt einige besser entwickelte, nicht scharf begrenzte, etwa 3 mm hohe Kolonien	Wie bei Bernsteinsäure
Wie nach 8 Tagen	Flüssigkeit schwach getrübt. Absatz sehr gering. Nur noch 2 große Hautinseln. Durchmesser etwa 30 mm, nicht scharf begrenzt	Geringer, feinflockiger Absatz, gleichmäßig gelagert Kein Ring und Rand. Keine Haut
Wie nach 8 Tagen	Oberfläche hautfrei, sonst wie bei Weinsäure	Flüssigkeit gelb gefärbt. Starker, gelber Absatz, aus großen Hautfetzen bestehend. Haut geschlossen, gelb-grau, matt
Starke Trübung, Ring sehr schwach, fast geschlossen. Hautinseln und Absatz wenig vermehrt	Flüssigkeit fast klar, Absatz zeigt viele kompakte, scharf begrenzte Kolonien und wächst etwa 1 cm an der Wand empor. Sehr schwacher Ring. Die jeweils neugebildeten, grauweißen, schleimigen Hautinseln fallen bald zu Boden	Keine Haut. Sonst wie nach 25 Tagen
Geringe Trübung. Geringer Absatz. Geschlossene, gleichmäßige, mattgraue Haut	Flüssigkeit stark getrübt. Mäßiger, feinflockiger, ungleichmäßig gelagerter Absatz, der wie beim blinden Versuch an der Wand emporwächst. Schwacher grau-weiß-schleimiger Ring. Haut nicht mehr geschlossen	Flüssigkeit klar. Ring geschlossen. Einzelne Hautinseln

Tabelle 9.

No.	Säure	Nach 4 Tagen	Nach 8 Tagen
2	Essigsäure	Beide Kulturen verschieden stark entwickelt. In der einen Flüssigkeit getrübt, deren Oberfläche fast ganz von mehreren sehr großen, grauschleimigen Hautinseln bedeckt ist, Durchmesser etwa 2 cm. In der anderen Kultur keine Trübung und nur 1 Hautinsel von 6 mm Durchmesser. In beiden Kulturen geringer Absatz	Die beiden Kulturen haben sich in ihrer Entwicklung genähert, geringe Trübung, mäßiger Absatz. Haut noch nicht geschlossen
	Milchsäure	Kultur sehr gut entwickelt. Starke Trübung besonders nahe der Flüssigkeitsoberfläche. BeginnendeRingbildung Mattgraue, geschlossene Haut	Starke Trübung, Absatz flockig. Ring und Haut fast geschlossen
	Bernsteinsäure	Haut wie beiMilchsäure, aber noch nichtgeschlossen. Ring und Trübung wie bei Milchsäure	Wie bei Milchsäure
	Äpfelsäure	Beginnende Ringbildung. Haut geschlossen mattgrau, schleimig	Analog aber etwas schwächer wie bei Milchsäure entwickelt.
	Weinsäure	Wie bei Apfelsäure	Die Kulturen sind gegenüber denjenigen mit Äpfelsäure etwas zurückgeblieben

Nach 14 Tagen	Nach 25 Tagen	Nach 180 Tagen
Wie bei Ameisensäure	Flüssigkeit schwach getrübt, Absatz wie bei Ameisensäure. Beginnende Randbildung. Haut nicht mehr geschlossen	Absatz stark grobflockig, Rand geschlossen. Keine Haut
Ring weiß-schleimig, geschlossen, Rand 14 bis 16 mm. Viele weiße, grauschleimige Hautinseln, zirka 10—14 mm lang, leicht gekrümmt. Ein Teil der Haut in zusammenhängenden Fetzen am Boden	Starke Trübung nahe der Oberfläche. Absatz beträchtlich, grobflockiger wie bei Essigsäure. Geschlossener, gelblich-schleimiger Ring. Ein zusammenhängedes Stück davon ist zu Boden gefallen. Oberfläche hautfrei	Rand gelb, 3 mm. Haut gelb, glasig, geschlossen. Große Hautfetzen am Boden
Geringe Trübung, starker Absatz, fettig-milchiger Ring. Geschlossene Haut, milchig-grau	Kulturen zeigen kräftiges Wachstum. Schwache Trübung, gut entwickelter grobflockiger Absatz. Ring grau, etwa 2 mm. Rand 6 mm. Haut nicht mehr geschlossen	Schwache Trübung, Absatz grobflockig, stark, ungleichmäßig abgelagert Rand gelb-weiß, 3 mm breit. Haut gelb-weiß, geschlossen
Wie bei Bernsteinsäure	Wie bei Bernsteinsäure	Wie bei Bernsteinsäure Absatz etwas stärker
Flüssigkeit klar. Absatz gering. Rand unregelmäßig bis zu 14 mm. Haut fast geschlossen, aus zahlreichen, teils mattgrauen, teils milchig-weißen Hautinseln bestehend	In der Nähe der Flüssigkeitsoberfläche haben sich an der Gefäßwand viele punktförmige Kolonien angesetzt. Kein Ring. Rand 15—18 mm, schwach, grau-schleimig. Haut nicht ganz geschlossen	Wie nach 25 Tagen Absatz mäßig

Tabelle 9.

No.	Säure	Nach 4 Tagen	Nach 8 Tagen
2	Zitronensäure	Wie bei Äpfelsäure	Kulturen sind am wenigsten von der ganzen Serie entwickelt. Flüssigkeit klar, Absatz gering. Schwache Randbildung. 3—4 mm. Haut schwach, hellgrau, noch nicht ganz geschlossen
15	Kontrollversuch ohne Zusatz	—	Sehr schwach entwickelt. Flüssigkeit klar Absatz sehr gering. Wenige, unregelmäßige, graumatte Inselchen
	Ameisensäure	—	Noch schwächer, aber analog wie beim Kontrollversuch entwickelt
	Essigsäure	Rasche Entwicklung, aber nicht so stark wie bei Milch- u. Bernsteinsäure. Starke Trübung, geringer Bodensatz. Geschlossener Ring. Große mattgraue Hautinseln. Durchmesser 7—15 mm	Starke Trübung, mäßiger Absatz. Rand mattweiß, 3—5 mm. Haut geschlossen, die einzelnen Inselchen sind noch erkennbar
	Milchsäure	Bodensatz kleinkörnig. Rand 3—5 mm, Teile der Haut fallen fein verteilt zu Boden. Oberfläche ganz bedeckt von teils weißgrauen, teils mattgrauen glasigen Hautinseln, Durchmesser 3 bis 5 mm. Kulturen sind am besten von der ganzen Serie entwickelt.	Flüssigkeit getrübt. Mäßiger Absatz, Rand rein weiß, 5—6 mm hoch, regelmäßig. Haut geschlossen und fein gefaltet, mattgrau mit helleren Stellen

Nach 14 Tagen	Nach 25 Tagen	Nach 180 Tagen
Wie nach 8 Tagen	Kulturen am schwächsten entwickelt. Flüssigkeit klar, Absatz sehr gering. Kein Ring. Rand zirka 15 mm. Haut und Kolonien an der Gefäßwand wie bei Weinsäure	Flüssigkeit klar. Absatz gelb, mäßig. Neuer Rand 3 mm. Keine Haut
Ein Fortschritt in der Entwicklung ist kaum erkennbar	Flüssigkeit klar, schwacher, gleichmäßig abgelagerter Rand. Beginnende Ringbildung. Hautinseln haben sich etwas vermehrt, grau, matt, trocken, unregelmäßig begrenzt	Sehr schwache Entwicklung. Absatz sehr gering mit einzelnen, sehr kleinen, etwas besser entwickelten Kolonien. Ring nicht ganz geschlossen
Wie beim Kontrollversuch	Flüssigkeit fast klar, Absatz etwas stärker wie beim Kontrollversuch. Rand etwa 4 mm, schwach. Hautinseln wie beim Kontrollversuch	Die Entwicklung ist jetzt eine sehr gute, besser wie beim Kontrollversuch
Haut nicht mehr geschlossen, sonst wie nach acht Tagen	Schwache Trübung, beträchtlicher Absatz, feinflockig, gleichmäßig abgelagert. Unregelmäßiger schwacher, weißer Rand. Haut geschlossen, neugebildet, noch nicht gefaltet	Bodensatz grobflockig, gelbweiß. Rand 3 mm, weiß. Haut am Boden
Flüssigkeit klar, sonst wie nach 8 Tagen	Entwicklung besser wie bei Essigsäure, aber von derjenigen mit Bernsteinsäure überholt	Wie bei Essigsäure

Tabelle 9.

No.	Säure	Nach 4 Tagen	Nach 8 Tagen
15	Bernsteinsäure	Flüssigkeit klar, Bodensatz feinmehlig. Beginnende Randbildung. Etwa ⅓ der Oberfläche ist bedeckt von mattgrauen Hautinseln, Durchm. bis zu 5 mm	Nach Milchsäure am besten entwickelt. Sonst wie bei Milchsäure
	Äpfelsäure	Flüssigkeit klar, Absatz minimal. Zahlreiche, sehr kleine, meist kreisrunde, mattgraue Hautinseln, stellenweise größere Kolonien bildend	Entwicklungsform wie beim Kontrollversuch, aber etwas besser
	Weinsäure	Wie bei Äpfelsäure	Wie bei Äpfelsäure
	Zitronensäure	Wie bei Äpfelsäure, aber etwas schwächer entwickelt	Analog und ebenso stark wie bei Äpfelsäure entwickelt
16	Kontrollversuch ohne Zusatz	Einzelne ganz kleine, mattgraue Hautinseln	Flüssigkeit schwach entfärbt, Absatz körnig, gut entwickelt. Inseln wenig vermehrt
	Ameisensäure	—	Flüssigkeit klar, Absatz wächst strahlenförmig nach oben. Einzelne regelmäßig begrenzte, mattgraue Hautinseln

Nach 14 Tagen	Nach 25 Tagen	Nach 180 Tagen
Schwache Trübung. Absatz gering, feinmehlig. Ring grau-weißlich, nicht so rein weiß, wie bei Milchsäure. Die schwache graue, trockene Haut ist wenig gefaltet	Kulturen sind jetzt am besten entwickelt	Sehr starker, grobflockiger, gelb-weißer Absatz, sonst wie bei Milchsäure
Kulturen sind jetzt viel besser entwickelt wie bei dem Kontrollversuch. Schwache flockige Trübung, geringer Absatz. Ring etwa 4 mm hoch. Haut fast geschlossen	Rand noch nicht ganz vollständig. Haut noch nicht geschlossen. Mehrere Hautinseln zu Boden gesunken	Die halbe Oberfläche ist in beiden Kulturen mit einer neuen Haut bedeckt. Schwache Trübung, Absatz grobflockig, ungleichmäßig abgelagert. Rand 2 mm
Flüssigkeit klar, sehr schwacher Absatz. Viele kleine, mattgraue Hautinseln, nicht scharf begrenzt	Schwache Trübung. Absatz wie beim Kontrollversuch. Hautinseln bedecken etwa ⅔ der Oberfläche	Sehr geringer Absatz. Weder Ring noch Rand. Oberfläche hautfrei
Wie bei Weinsäure	Flüssigkeit klar, geringer Absatz. Beginnende Randbildung. Haut wie bei Weinsäure	Starker grobflockiger Absatz. Rand 3 mm. Keine Haut
Die Kulturen sind vorläufig am schwächsten entwickelt. Schwache Trübung. Die wenigen Hautinseln am Boden	Absatz sehr gering. Schwache Randbildung. Mehrere neu gebildete Hautinseln, mattgrau, trocken, nicht scharf begrenzt	Flüssigkeit klar, mäßiger, gleichmäßig gelagerter Absatz. Schwache Entfärbung. Rand etwa 6 mm Haut fast ganz geschlossen und schwach gefaltet
Absatz wenig vermehrt, beginnende Randbildung. Mehrere große, an der Gefäßwand anliegende, mattgraue, gelappte Hautinseln	Flüssigkeit klar, Absatz etwa doppelt so stark wie beim Kontrollversuch. Rand schwach 4—5 mm. Hautinseln haben sich kaum vermehrt, aber stark vergrößert	Flüssigkeit klar, schwach orange gefärbt. Absatz sehr stark, größtenteils aus abgefallenen Hautfetzen bestehend. Rand rein weiß. Die großen Hautinseln bedecken etwa die halbe Flüssigkeitsoberfläche

Tabelle 9.

No.	Säure	Nach 4 Tagen	Nach 8 Tagen
16	Essigsäure	Einzelne kleine, kreideweiße Hautinseln	Wie bei Ameisensäure, nur sind die Inseln etwa doppelt so groß
	Milchsäure	Einzelne große, mattgraue Hautinseln	Rand fast geschlossen, gelb-weiß. Oberfläche erscheint marmoriert, mattgraue Hautinseln, in den Zwischenräumen gelblich-weiße Schlieren
	Bernsteinsäure	Wie bei Milchsäure	Scharf begrenzte Trübung, bis etwa 2 mm unter der Flüssigkeitsoberfläche. Haut wie bei Milchsäure
	Äpfelsäure	Wie bei Milchsäure	Die Kulturen zeigen dasselbe äußere Bild wie bei Bernsteinsäure
	Weinsäure	Wie bei Milchsäure, Inseln doppelt so groß, 7—8 mm	Rand 2 mm. Matt, glasig. Oberfläche marmoriert wie bei Milchsäure, nur sind die Inseln kleiner
	Zitronensäure	Beginnende Randbildung, fast geschlossene, mattgraue Haut	Wie bei Bernsteinsäure, unregelmäßiger, grauglasiger Rand bis zu 15 mm

Nach 14 Tagen	Nach 25 Tagen	Nach 180 Tagen
Weißer schleimiger Rand, 5—6 mm hoch. Teile der abgefallenen ersten Haut liegen in großen Fetzen aufgerollt am Boden. Geschlossene, grauweiße, schleimige Haut, stark gefaltet, starke Längs- und schwache Querfalten gut erkennbar	Flüssigkeit klar, starker Absatz. Unregelmäßiger, grau-weißer, trockener Rand. Die neu gebildete Haut ist geschlossen, aber noch nicht gefaltet	Form und äußere Beschaffenheit wie nach 14 Tagen. Flüssigkeit schwach getrübt, starker Absatz, feinflockig, gleichmäßig abgelagert. Haut geschlossen
Flüssigkeit klar und dunkler gefärbt, einzelne Hautfetzen am Boden. Haut nicht mehr ganz geschlossen, ebenso der gelblich-weiße, schleimige Rand	Flüssigkeit schwach getrübt, Absatz flockig, ungleichmäßig abgelagert, etwas stärker wie bei Essigsäure. Rand mattgrau, trocken, 4 mm, sehr regelmäßig. Haut geschlossen und fein gefaltet	Flüssigkeit dunkler gefärbt. Farbentiefe 0,8. Absatz gelb, grobflockig, mit einzelnen großen Kristallen von oxalsaurem Kalk. Rand gelb. Viele gelbe kleine Hautinseln
Haut nicht mehr geschlossen, sonst wie nach 8 Tagen	Geringe Trübung. Absatz wie bei Ameisensäure. Rand wie bei Milchsäure, große herabhängende Hautfetzen. Mehrere neugebildete, matt-graue Hautinseln, trocken, unregelmäßig begrenzt	Flüssigkeit dunkler gefärbt. Farbentiefe 0,6. Starker, gelber, grobflokkiger Absatz. Haut fast geschlossen, dunkelgelb
Analog, aber etwas schwächer wie bei Bernsteinsäure entwickelt	Wie bei Bernsteinsäure	Flüssigkeit schwach orange gefärbt. Absatz sehr stark, weiß, grobflockig. Kristalle. Rand weiß 3 mm. Keine Haut
Wie bei Milchsäure	Flüssigkeit klar, Absatz sehr gering, etwa wie bei dem Kontrollversuch. Beginnende Randbildung. Kleine, unregelmäßig geformte mattgraue Hautinseln bedecken etwa die Hälfte der Flüssigkeitsoberfläche	Flüssigkeit klar. Absatz sehr gering. Kein Ring und Rand. Oberfläche hautfrei. Relativ geringe Entwicklung
Flüssigkeit durch Hautteile flockig getrübt. Schwacher, feinflockiger Absatz. Haut geschlossen, die einzelnen Inseln noch gut erkennbar	Flüssigkeit klar, Absatz mäßig. Beginnende Randbildung. Haut nicht mehr geschlossen	Flüssigkeit schwach getrübt, sehr starker gelblich-weißer, grobflockiger Absatz. Fast geschlossene, mattgelbe Haut

Tabelle 5.

Wachstumserscheinungen der Kulturen in Hefe-

No.	Nach 3 Tagen	Nach 7 Tagen	Nach 14 Tagen
7	Flüssigkeit klar, Absatz wenig entwickelt. Keine Haut	Absatz gering. Noch keine Haut	Absatz wächst etwa 2 cm strahlenförmig an der Wand empor
8	Wie bei 7	Wie bei 7	Schwache Trübung, beginnende Ringbildung, keine Haut
1	Flüssigkeit klar, Absatz gut entwickelt. Keine Haut	Starker Absatz. Einzelne Hautinseln	Beginnende Randbildung. Haut fast geschlossen, mattgrau
9	Flüssigkeit klar. Absatz sehr gering. Einige mattgraue Hautinseln	Die mattgrauen, schleimigen Hautinseln bedecken die halbe Flüssigkeitsoberfläche. Sie sind unregelmäßig begrenzt	Rand etwa 3 mm hoch. Haut grau marmoriert, ganz geschlossen
10	Entwicklung äußerlich nicht sichtbar	Mäßiger, feinflockiger Absatz. Keine Haut	Absatz gut entwickelt, beginnende Ringbildung Wenig Hautinseln
2	Flüssigkeit klar. Absatz mäßig. Einige Hautinseln nahe der Gefäßwand	Absatz stark, grobflockig. Etwa die halbe Flüssigkeitsoberfläche von kleinen Hautinseln bedeckt	Rand etwa 2 mm. Geschlossene Haut, kreideweiß, fein marmoriert

wasser mit ursprünglich 4,84 Gew. % Alkohol.

Nach 30 Tagen	Nach 60 Tagen	Nach 190 Tagen
Absatz ist fast bis an die Flüssigkeitsoberfläche emporgewachsen	Keine äußerlich sichtbare Weiterentwicklung	Wie nach 60 Tagen. Absatz zitronengelb gefärbt
Vereinzelte Hautinseln	Absatz etwas an derWand emporwachsend. Fast geschlossener Ring. Zahlreiche Hautinseln	Absatz etwas stärker wie bei 7, gelb gefärbt. Ring zu Boden gesunken, keine Haut. Sehr geringe Entwicklung
Mäßiger Absatz. Rand geschlossen. Einzelne neue Hautinseln. Die alte Haut am Boden	Wie nach 30 Tagen. Absatz etwas stärker	Flüssigkeit stark getrübt, sehr starker, lederbrauner Absatz, feinflockig. Absatz zeigt deutlich konzentrische Ringe. Rand zirka 2 cm. Geschlossene, marmorierte Haut
Haut geschlossen. Große Fetzen der alten Haut am Boden	NeueHaut, alte amBoden	Flüssigkeit klar, Absatz hellbraun, stark grobflockig, aus großen Hautfetzen bestehend. Rand gelb, etwa 15 mm hoch. Geschlossene, gelbweiße Haut
Mäßige Trübung, mäßiger Absatz, fast geschlossener Ring. Einzelne Hautinseln	Starke Trübung. Beginnende Randbildung. Ring und Haut geschlossen	Flüssigkeit stark getrübt. Absatz feinflockig, sehr gleichmäßig mit deutlichen konzentrischen Ringen und dunklerem, lederbraunemKern. Rand schwach, etwa 8 mm. Flüssigkeitsoberfläche hautfrei
Flüssigkeit schwach getrübt. Fetzen der Haut am Boden	Rand etwa 4 mm. Sonst wie nach 30 Tagen	Starker, braungelber Absatz, grobflockig, Rand besteht aus zwei Teilen, einem kompakteren, unteren Teil zirka 14 mm hoch und einem feineren durchscheinenden, der aus punktförmigen Kolonien zusammengesetzt ist, zirka 25 mm hoch. Sehr starke, gelbweiße Haut, fein gefaltet.

Tabelle. No. 5.

No.	Nach 3 Tagen	Nach 7 Tagen	Nach 14 Tagen
15	Flüssigkeit klar, Absatz mäßig, beginnende Ringbildung. Spuren von Hautinseln	Schwache Trübung, etwa 2—3 mm hoher Rand, geschlossen. Hautinseln stark vermehrt	Geringe Trübung. Rand bis zu 5 mm, weiß. Haut geschlossen
16	Nur der Absatz hat sich mäßig entwickelt	Absatz grobflockig, beginnende Ringbildung, Spuren von Hautinseln	Ring geschlossen. Haut geschlossen, beginnt in großen Fetzen zu Boden zu fallen

Nach 30 Tagen	Nach 60 Tagen	Nach 190 Tagen
Wie nach 14 Tagen	Mäßiger Absatz, Rand 15—18 mm. Flüssigkeitsoberfläche hautfrei	Der lederbraune Absatz ist gering, da fast nur Deckenwachstum; konzentrische Ringe mit dunklerem Kern. Rand 35 mm, gelb. Haut sehr stark, etwa 5 mm dick, grob nierenförmig gefaltet; zeigt traubenförmig herabhängende Ansätze
Absatz wächst nach oben. Haut am Boden	Absatz stärker wie bei 15. Rand etwa 4 mm hoch. Neue Haut	Flüssigkeit stark getrübt. Absatz stärker wie bei 15, grobflockig, unregelmäßig lederbraun. Rand weiß, ungleichmäßig bis zu 20 mm hoch. Haut geschlossen, aber schwach entwickelt



Vorliegende Arbeit wurde an der Wissenschaftlichen Station für Brauerei in München auf Veranlassung des Herrn Professors Dr. H. Will ausgeführt.

Es sei mir gestattet, auch an dieser Stelle, diesem meinem hochverehrten Lehrer für die liebenswürdige Unterstützung, die er mir jederzeit zu teil werden ließ, meinen herzlichsten Dank auszusprechen.

Lebenslauf.

Ich, Joseph Scheckenbach, katholischen Glaubens und bayerischer Staatsangehörigkeit, wurde am 10. Dezember 1883 zu Nürnberg geboren als der Sohn des Kaufmanns und K. Handelsrichters Valentin Scheckenbach und seiner Ehefrau Jeanette geb. Bauer. Ich besuchte das K. Alte Gymnasium und später das Realgymnasium in Nürnberg, welches ich im Jahre 1902 absolvierte. Ich diente dann als Einjährig-Freiwilliger und widmete mich ab Oktober 1903 dem Studium der Philosophie und nach Ostern 1904 dem Studium der Chemie an den Universitäten Berlin, München und Erlangen, sowie an den Technischen Hochschulen zu Charlottenburg und München. Seit Januar 1911 bin ich erster Assistent am hygienisch-bakteriologischen Institut der Universität Erlangen.